This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

+ *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.

+ *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.

+ *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.

+ *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter `http://books.google.com` durchsuchen.

THE GIFT OF
Utrecht University.

SCIENCE LIBRARY
QK
740
D58

Phytochemische onderzoekingen over Alkaloïden

IN VERBAND MET

HET KIEMEN.

Phytochemische onderzoekingen over Alkaloïden

IN VERBAND MET

HET KIEMEN.

PROEFSCHRIFT

TER VERKRIJGING VAN DEN GRAAD VAN

Doctor in de Artsenijbereidkunde

aan de Rijks-Universiteit te Utrecht,

NA MACHTIGING VAN DEN RECTOR-MAGNIFICUS

Dr. H. WEFERS BETTINK,

Hoogleeraar in de Faculteit der Wis- en Natuurkunde,

VOLGENS BESLUIT VAN DEN SENAAT DER UNIVERSITEIT

TEGEN DE BEDENKINGEN VAN DE FACULTEIT DER WIS- EN NATUURKUNDE,

TE VERDEDIGEN

op WOENSDAG 27 JUNI 1900, des namiddags te 3½ ure,

DOOR

EMILE BERNARD VAN DIJCK,

geboren te **BANGKALAN.**

GOUDA,
KOCH & KNUTTEL.
1900.

AAN WIJLEN MIJNE MOEDER

EN AAN

MIJN VADER.

189656

Bij het officieele einde mijner academische loopbaan, rust op mij de aangename plicht een woord van dank te richten tot allen, die medegewerkt hebben aan het voleinden mijner studies.

In de eerste plaats mijn welgemeenden dank aan HH. Hoogleeraren aan de Utrechtsche en Amsterdamsche Universiteiten, van wie ik onderwijs mocht genieten. Dit geldt voor een groot deel U, Hooggeleerde DE VRIES, WENT *en* HUBRECHT, *want ik heb Uwe wetenschappelijke leiding, in zoo vriendelijken vorm genoten, leeren waardeeren.*

Hoe kan ik echter U, Hooggeleerde WEFERS BETTINK, *Hooggeachte Promotor, erkentelijk genoeg zijn voor de levendige belangstelling, die ik steeds van Uwe zijde mocht ondervinden, en waarvan ik bij het samenstellen van dit proefschrift zoo ruim-*

schoots de blijken ondervond. Te trachten, deze belangstelling tijdens mijne verdere loopbaan waardig te zijn, is mijn oprechte wensch.

Ten slotte aan allen, Lectoren, assistenten en vrienden, die mij op eenigerlei wijze in mijne studie hebben gesteund, mijnen hartelijken dank!

HOOFDSTUK I.

A. **Inleiding.**

Wanneer men de litteratuur over alkaloïden[1]) nagaat, is het opvallend, dat, hoe belangrijk onze chemische kennis van deze verbindingen ook zijn moge, er betrekkelijk weinig bekend is van hunne constitutie.

Het onderzoek naar den bouw van de alkaloïde-moleculen is dan ook eerst in de laatste 20 jaren ter hand genomen.

Wel verkregen wij een inzicht in de structuur van velen onder hen, en zijn van cocaïne en atropine gedeeltelijke synthesen verricht, de volkomen synthese is slechts van 3 alkaloïden gelukt.

---

1) Om hierover een overzicht te verkrijgen, raadplege men: Einführung in das Studium der Alkaloïde von Dr. ICILIO GUARESCHI in 't Duitsch bewerkt door dr. KUNZ—KRAUSE, Berlin.

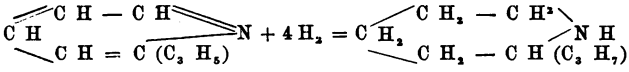
Deze zijn coniïne,[1]) trigonelline[2]) en pilocarpine.[3])

Schitterend, voorwaar, zijn deze resultaten, met de moderne methoden der synthetische scheikunde behaald, maar toch nog onvoldoende om ons eene verklaring te geven van de physiologische processen, waarin de alkaloïden een rol spelen. Het mag ons dan ook niet verwonderen, dat omtrent het

---

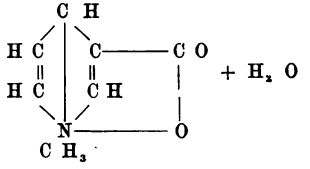
1) LADENBURG, Ann. Chem. & Pharm. 1888. 247 pag. 80.

Hij verkreeg coniïne door reductie van α — allylpyridine met natrium in alcoholische oplossing.



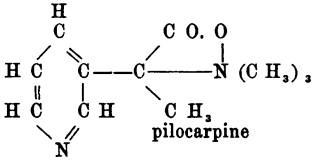
α — allylpyridine α — propylpiperidine = coniine.

2) Jahns. refer.: Ber. der Deutsch. Chem. Ges. 20. pag. 2840. Hij bewees de identiteit van trigonelline met methylbetaïne van nicotinezuur, dat reeds vroeger door HANTZSCH bereid was:



3) HARDY & CALMELS. Journ. d. Pharm. de chim [5] 16. 1887. pag. 204 en Comptes Rendus 1887. 105.

Zij zetten β — pyridine — α — melkzuur om in pilocarpidine door behandeling met P Br_3 en later met N $(CH_3)_3$. Het pilocarpidine werd daarna gemethyleerd tot



pilocarpine

ontstaan van alkaloïden in de planten onze kennis nog zeer gebrekkig is, en schijnt de tijd nog niet gekomen het verband tusschen de alkaloïden en de overige in de plantencel gevormde verbindingen op te sporen.

Om dit doel te bereiken is het van het grootste belang, alle verschijnselen, samenhangende met het voorkomen van alkaloïden in planten nauwkeurig na te gaan.

Het constateeren van de vorming van alkaloïde in organen, weefsels of cellen, waarin het tevoren niet aanwezig was, van een totaal verdwijnen, van eene vermeerdering of vermindering in gehalte is dan ook voor zulk onderzoek van het grootste gewicht, of m. a. w. de kennis van de localisatie der alkaloïden in de levende plant is een hoofdvereischte, het éénige, noodzakelijke uitgangspunt.

Het was mijn voornemen, aan de hand der localisatie, eenige gegevens te verzamelen, die zoowel betrekking hebben op het ontstaan der plantenbasen, als op de rol die zij in het plantenleven vervullen.

In verband met mijn indertijd voorgenomen verblijf in O.-Indië had ik daartoe uitdrukkelijk een plantengeslacht op het oog, dat pharmaceutisch van het grootste belang is, n.l. het geslacht *Cinchona*.

Ik bestudeerde de localisatie der kinabasen in alle organen — behalve de generatieve — van *Cinchona Leageriana* MOENS aan exemplaren, voor dat doel uit Java overgezonden. [1]) Toen ik hiermede gereed was en mijne onderzoekingen met *Cinchona Succirubra* PAV. wilde voortzetten, verscheen een voorloopige mededeeling van DR. LOTSY omtrent de resultaten van zijn localisatieonderzoek van dezelfde planten, waarin de schrijver tevens een nader onderzoek aankondigde naar het ontstaan en de beteekenis der kinabasen in de levende plant.

Hierdoor kan ik mijne resultaten omtrent dit onderwerp slechts als aanhangsel aan dit proefschrift mededeelen, waarmede ik tevens meen geen ondienst te bewijzen aan de resultaten van mijn eigenlijk onderzoek, daar gene ten deele deze bevestigen.

Het eigenlijke onderzoek omvat de localisatie der alkaloïden bij planten uit verschillende families, en wel voornamelijk in de perioden vóór, tijdens en kort na de kieming.

Na kieming van versch *Kinazaad*, dat vrij van

1) Het is mij aangenaam hier de H.H. Professoren WEFERS BETTINK en WENT mijn dank te betuigen voor de moeiten, die zij zich tot het verkrijgen dezer planten hebben gegeven, en den Heer P. VAN LEERSUM, toenmaals adjunct thans directeur der Gouvernementskinacultuur, voor de welwillendheid die planten af te staan en te verzenden.

alkaloïde is, was het mij namelijk gebleken, dat het kiemplantje onmiddellijk alkaloïde bevat; omgekeerd had ik waargenomen dat het alkaloïdehoudende zaad van *Datura Stramonium L.* bij kieming een plantje oplevert, waarin, behoudens nu en dan in het vegetatiepunt, geen spoor van alkaloïde is aan te toonen.

Ik zocht nu naar een antwoord op de vraag die zich voordeed, wannéér dit alkaloïde verdwijnt of optreedt, of dit een toevallig verschijnsel is of regel, en zoo dit laatste het geval is, welke aanleiding hiertoe bestaat.

Om tot eenig antwoord te geraken, was het noodig eene reeks van kiemproeven te doen, de zaden tijdens de kieming te controleeren en eindelijk de kiemplantjes aan een nauwkeurig onderzoek te onderwerpen.

Ter mijner beschikking stonden:

zaden van *Cinchona Ledgeriana* MOENS
Atropa Belladonna L.
Datura Stramonium L.
Hyoscyamus niger L.
Coffea arabica L.
Cytisus Laburnum L.
Lupinus luteus L.

en over deze zaden loopt dus mijn onderzoek.

Dit had in de meeste gevallen langs microchemischen weg plaats; doch dáár, waar eene vermeerdering of vermindering van alkaloïde moest worden aangetoond, werd de macrochemische methode toegepast.

Het resultaat door mij bij *Datura Stramonium L.* waargenomen, n.l. de omzetting van alkaloïde in andere verbindingen tijdens de kieming, werd door mij ook bij alle andere zaden (behalve natuurlijk bij *C. Ledgeriana*) verkregen.

Dat hierbij geen sprake is van een eenvoudige verplaatsing van het zaad naar het kiemplantje, hoop ik te zijner plaatse aan te toonen.

B. **Litteratuur.**

Het microchemisch onderzoek naar den zetel der alkaloïden dateert van het jaar 1849, toen BÖDEKER [1]) door middel van salpeterzuur berberine aantoonde in den wortel van *Cocculus palmatus D. C.* Sedert dien tijd zijn er verschillende phytochemici geweest, die zich met dit onderwerp hebben bezig gehouden en zijn de meer uitvoerige en grondige studies eerst gevolgd na het voortreffelijk werk van

1) C. BÖDEKER. Chemisch-physiologische Untersuchungen einiger Stoffe aus der familie der Menispermaceae. Annal. der Chemie und Pharmacie Bd LXIX S. 37.

de Belgische botanisten L. ERRERA, MAISTRIAU en G. CLAUTRIAU, „Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes." [1])

Behalve aan dezen, hebben wij aan hunne landgenooten A. DE WÈVRE [2]), P. MOLLE [3]) en E. DE WILDEMAN [4]) belangrijke onderzoekingen op dit gebied te danken.

In direct verband met mijn onderzoekingen staan die van HECKEL [5]), CLAUTRIAU [6]), BARTH [7]) en MOLLE.

Zij bestudeerden onder meer ook de localisatie van alkaloïden in zaden, en de drie eersten knoopten aan hunne resultaten beschouwingen vast over de beteekenis dier basen in het plantenleven.

---

1) Bruxelles 1887. HENRI LAMERTIN. Entrait du Journal publié par la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles 1887.

2) A. DE WÈVRE. Sur l'alcaloïde des narcisses. Bulletin des séances de la Société belge de Microscopie, séance du 30 Avril 1887. Localisation de l'atropine, ibidem. séance du 29 Octobre 1887.

3) P. MOLLE. La localisation des alcaloïdes dans les Solanacées Bullet d. l. soc. belge de microscopie 1894—1895 p. 8.

4) E. DE WILDEMAN. Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelqucs Orchidées. Ibidem. 1892. p. 101.

5) E. HECKEL Sur l'utilisation et les transformations de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination. C. R. Janvier 1891.

6) G. CLAUTRIAU. Localisation et signification des alcaloides dans quelques grains ann. d. l. Soc. belge de microscopie 1894. p. 35.

7) H. BARTH. Studien über den microchem. Nachweis von Alkaloïden in pharmaceutisch verwendeten Drogen. Bot. Centralblatt 1898 III Quartal Bd. LXXV. S. 225.

CLAUTRIAU, die hoofdzakelijk de zaden van *Datura Stramonium L.*, *Hyoscyamus niger L.*, *Atropa Belladonna L. en Conium maculatum L.* voor zijn onderzoek bezigde, komt daarbij tot zijn hoofdconclusie: dat het alkaloïde niet dienst doet als reserve voor de eiwitvorming in het zaad, maar zich hierin verzamelt zonder tijdens de kieming te worden veranderd.

Dit alkaloïde is daarenboven niet noodig voor de kieming. CLAUTRIAU bewees dit duidelijk door naast gewone zaden van *Datura Stramonium* andere te laten kiemen, waarvan hij voorzichtig de zaadhuid met de daaraan verbonden alkaloïdehoudende lagen, had afgepeld. Het bleek namelijk nu, dat uit beide soort zaden volkomen indentieke kiemplanten werden geboren, die in geen eigenschap van elkaar verschilden.

Wel geeft CLAUTRIAU toe dat tijdens de kieming nieuw alkaloïde gevormd wordt. Immers bevat volgens zijne opvatting het endosperm geen alkaloïde, en moet dus datgene, hetgeen hij in het vegetatiepunt van het kiemplantje aantrof, tijdens de kieming ontstaan zijn.

Bij het bestudeeren van de ontwikkeling van het ovulum bleek het verder, dat bij alle zaden, door CLAUTRIAU onderzocht, de beteekenis der alkaloïden

dezelfde is: bescherming tegen schadelijke invloeden der buitenwereld.

MOLLE [1]) die zich slechts even met dit onderwerp bezig hield, is ook van meening, dat tijdens de kieming alkaloïde wordt gevormd, niet verbruikt, en dat het als verweermiddel dient te worden opgevat.

Geheel in strijd met de resultaten van bovengenoemde 2 auteurs zijn die van HECKEL [2]). Hij nam waar, dat tijdens de kieming van zaden van *Datura Stramonium L.*, *Physostigma venenosum* BALF. *Sterculia acuminata L.* en *Strychnos nux vomica L.* deze grootendeels hun alkaloïde verliezen. Dit zou, onder den invloed van de kiem, overgegaan zijn in beter assimileerbare stoffen, omdat, zóó betoogt hij, zaden, van hun kiem bevrijd, alvorens in den grond te worden gelegd, aldaar hun alkaloïde zonder eenige verandering behouden.

Daar HECKEL macrochemisch de vermindering van alkaloïden in het endosperm en embryo van *Strychnos nux vomica- L.* en *Physostigma venenosum*-BALF. zaden tijdens de kieming constateerde, neemt hij aan dat de kiem ten koste van het alkaloïde van het endosperm zich ontwikkelde.

1) MOLLE. loc. cit.
2) loc. cit.

Dit verbruikt worden van alkaloïde in het zaad tijdens de kieming heeft ook BARTH [1]) bewezen voor *Datura Stramonium*. Hij nam eerst langs microchemischen weg waar dat de intensiteit der reactie, in doorsneden van gekiemd zaad, aanmerkelijk verzwakt was, vergeleken met die, welke hij in doorsneden van ongekiemd zaad had verkregen. Deze waarneming langs macrochemischen weg controleerende, vond hij dat het alkaloïde-gehalte tijdens de kieming langzamerhand verminderde, en dus deze base, hoewel voor de kieming van het zaad niet onmisbaar, toch in die periode wordt omgezet.

Ook mijne kwantitatieve bepalingen leiden, wat *Datura Stramonium* betreft, tot hetzelfde resultaat. Doch was ik bovendien in staat dit te bevestigen, door na te gaan, hoe zaden van andere planten zich in dit opzicht gedragen; allen bleken tijdens de kieming alkaloïde te verliezen.

Toch meen ik, dat dit verlies aan alkaloïde niet beschouwd moet worden als een verbruik van reservevoedsel, zooals HECKEL dit opvat, doch als het toevallig resultaat van algemeene ontwikkelingsprocessen die in de plantencel plaats hebben.

Wat de localisatie in de door mij onderzochte zaden en kiemplanten betreft, verwijs ik naar mijn

1) loc. cit.

eigenlijk onderzoek, alwaar ook de resultaten van CLAUTRIAU en BARTH, voor zoover deze dezelfde planten bezigden, zullen worden besproken.

C. **Methode.**

De methode van microchemisch onderzoek naar den zetel der alkaloïden was zeer gebrekkig, totdat in 1887 ERRERA, MAISTRIAU en CLAUTRIAU in hun boven reeds genoemd voortreffelijk werkje, en ERRERA in zijn helder uiteengezette brochure „Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques" duidelijk maakten, welke de hinderpalen zijn, die in de plantencel het aantoonen van alkaloïde verhinderen of onmogelijk maken.

Het toepassen van bijzondere reactieven lijdt gewoonlijk schipbreuk, omdat deze òf niet gevoelig zijn, òf te samengesteld om onder het microscoop ten uitvoer te worden gebracht. In gevallen, waarin de reacties zuivere kleurreacties zijn, loopt men bovendien gevaar, dat het indringende reactief, het weefsel doodende, alkaloïde medevoert uit alkaloïde-houdende cellen naar cellen, welke oorspronkelijk die base niet bevatten. Anders is dit met zulke reactieven, die met alkaloïden praecipitaten vormen. Deze zijn de algemeene reactieven,

welke dan ook bij voorkeur door mij gebezigd werden.

Het kwam mij gewenscht voor, mij niet alleen bij één algemeen reactief te bepalen, doch er zooveel mogelijk toe te passen. In den regel bezigde ik als reactief ioodioodkalium [1]) omdat dit de alkaloïden als goed waarneembare donker gekleurde praecipitaten aanwijst, die dikwijls na eenigen tijd kristallijn worden. Wel geeft ook MAYER's reagens [2]) met alkaloïden in de plantencel praecipitaten, doch leveren deze geen beeld, dat genoeg verschilt van het omliggend protoplasma en den verderen celinhoud.

Het grootste bezwaar, dat het aanwenden van ioodioodkalium als reactief met zich medebrengt is de omstandigheid, dat het met den verderen celinhoud reacties te voorschijn roept, die gelijken op die, welke met alkaloïden verkregen worden. Toch is het voor den microscopist niet al te bezwaarlijk onderscheid te vinden in deze schijnbare gelijkenis. Terwijl de verkleuring en het praecipitaat, die dit reactief met eiwitachtige stoffen oplevert, geel is en tevens het korrelige protoplasma er slechts geel door gekleurd wordt, is het alkaloïde-praecipitaat

---

1) Deze oplossing bevatte 1 % Iodium en zooveel Ioodkalium als juist noodig was om het Iodium in oplossing te houden.

2) Bereid volgens MAYER. Pharm. Zeitschr. f. Russland, I, pag. 502.

bij alle planten, die ik onderzocht, donker en bruinrood, en bovendien als goed afgeronde korrels zichtbaar.

Een zeer goed reactief is ook Bismuth-kaliumiodide [1]), hetgeen ook donkere, bruinroode praecipitaten met alkaloïden geeft. Voor contrôle heeft mij dit reactief zoowel als MAYER's reagens goede diensten bewezen.

Toch is de grootste voorzichtigheid in het beoordeelen van een praecipitaat of verkleuring aan te raden, en paste ik dan ook de differentieermethode van ERRERA toe, terwijl ik daar, waar vermindering of vermeerdering van alkaloïde moest worden aangetoond, de microchemische reacties van eene macrochemische kwantitatieve bepaling deed vergezeld gaan.

Van de doorsneden kwamen natuurlijk alleen dezulken in aanmerking, die dikker waren dan 1 cel. Deze werden in het alkaloïde-reagens gebracht, dat zich in een horlogeglas bevond, om het praecipitaat, afkomstig van doorgesneden cellen, af te wasschen, en vervolgens in een druppel van hetzelfde reagens onder het microscoop gebracht.

Naast de doorsneden op deze wijze behandeld,

1) Bereid volgens DRAGENDORFF. Die gerichtlich chemische Ermittelung von Giften, pag. 123. Göttingen.

die ik gemakshalve „vol" zal noemen, werden nu ter contrôle een 2de soort doorsneden onderzocht, die ik met „leeg" zal betitelen. Vooraleer namelijk deze met het alkaloïde-reagens in aanraking kwamen, werden zij eenigen tijd in een 5% oplossing van wijnsteenzuur in absoluten alcohol gebracht. Bevatten nu de cellen alkaloïde, dan is het duidelijk, dat dit in de laatste vloeistof oploste en dus in een „leege" doorsnede geen praecipitaat met een alkaloïde-reactief meer werd verkregen, terwijl dit natuurlijk wel het geval was geweest met een „volle" doorsnede.

Gaven zoowel „volle" als „leege" doorsneden onder het microscoop hetzelfde beeld te aanschouwen, dan werd aangenomen dat daarin geen alkaloïde aanwezig was.

Voor de macrochemische kwantitatieve bepalingen werden de methoden van DIETERICH en die van KELLER [1]) gevolgd.

Het zaad of de kiemplanten werden gekneusd, bij 45° gedroogd, en wat de eerste methode betreft aldus behandeld.

10 gram werd met ± 20 gram versch gebluschte kalk gemengd en in het Soxhelet-apparaat met

1) Schweizerische Wochenschrift für chemie und Pharmacie. Zürich. 1894. pag. 44.

aether (cytisine met chloroform) uitgetrokken, gedurende minstens 4 uren. De aether of chloroform werd daarna verdampt, en de verdampingsrest in $^1/_{100}$ n. zoutzuur opgenomen, door een wattenpropje in een klein trechtertje gefiltreerd, en nadat de watten goed uitgewasschen was, het filtraat met $^1/_{100}$ normaal kaliloog terug getitreerd met rosolzuur als indicator.

Voor de berekening werd aangenomen dat 1. c. c. $^1/_{100}$ n. zuur = 0,00289 gr. atropine (hyoscyamine of hyoscine.)

Voor de methode van KELLER werden 10 gram van de te onderzoeken zaden of planten met 100 gram aether overgoten in een goed sluitende kolf en vervolgens $^3/_4$ uur ter zijde gezet. Dan werd 5 minuten lang met 15 c. c. 10% ammoniak geschud, en dit schudden gedurende 3 uren telkens herhaald. De aetherische alkaloïde oplossing werd nu gefiltreerd, en 75 gram van het filtraat met 1% zoutzuur telkens uitgeschud, totdat met MAYER's reagens geen praecipitaat meer werd verkregen in de afloopende zoutzure oplossing.

De zure oplossing, waarin dus alle alkaloïde was overgegaan, maakte ik nu alkalisch met natronloog, schudde met aether uit, en verdampte deze in een getarreerd kolfje, waarin het alkaloïde zoowel door weging als door titreeren met $^1/_{100}$ normaal zoutzuur werd bepaald.

HOOFDSTUK II.

EIGENLIJK ONDERZOEK.

A. **De Solanaceae:** *Atropa Belladonna L.*
Datura Stramonium L.
Hyoscyamus niger L.

Verschillende Solanaceae zijn reeds microchemisch onderzocht ter bestudeering van de localisatie zoowel van solanine als van alkaloïden.

De Vries [1]) toonde in 1878 de aanwezigheid van solanine aan in *Solanum tuberosum L.*, met behulp van zwavelzuur en contrôleerde in verband met dat glucoside den groei van die plant.

Schaarschmidt [2]) en Wothschall [3]) bestudeerden eveneens de localisatie van solanine en koos de

1) Landwirtsch. Jahrb. 1878, pag. 241.
2) Zeitschr. f. wiss. mikrosk. I pag. 61. 1884.
3) Zeitschr. f. wiss. mikrosk. V pag. 19 en 182. 1888.

eerste daarvoor *Lycopersicum esculentum* MILL., *Capsicum annuum* FINGERH., en *Mandragora officinalis L.*, terwijl de laatste evenals DE VRIES *Solanum tuberosum* voor zijn onderzoek bezigde.

Atropa Belladonna L. was voor A. DE WÈVRE [1]), *Nicotiana macrophylla L.* voor ERRERA [2]) een onderwerp van microchemische studie. Geen van beiden onderzocht echter het zaad.

Na het jaar 1887 zijn het ANEMA [3]), CLAUTRIAU [4]), MOLLE [5]) en BARTH [6]), die nog in Solanaceae alkaloïde microchemisch opspoorden.

ANEMA en BARTH onderzochten de volwassen planten en ook het zaad, de eerste van *Atropa Belladonna* en *Nicotiana Tabacum* de laatste bij *Atropa Belladonna*, *Datura Stramonium* en *Hyoscyamus niger*.

Deze laatste species waren ook de onderzoeksobjecten van CLAUTRIAU, die de zaden en de jonge plantjes ter onderzoek nam.

MOLLE trachtte zooveel mogelijk algemeene gege-

---

1) loc. cit.

2) loc. cit.

3) ANEMA. De zetel der alkaloïden bij enkele narcotische planten. Dissertatie Utrecht 1892.

4) loc. cit.

5) loc. cit.

6) loc. cit.

vens over de alkaloïden-localisatie bij Solanaceae te verkrijgen en vulde de reeds verrichte studies aan met die over:

Nicandra physaloïdes L.
Physalis alkekengi L.
Petunia violacea LINDL.
Salpiglossis sinuata RUIZ ET PAV.
Brunsfelsia americana SW.

Van deze min of meer belangrijke werken of werkjes, zijn, in verband met mijn onderzoek, die van de 4 laatstgenoemde schrijvers de voornaamste, met name zijn het de tegenstrijdige resultaten van ANEMA eenerzijds en die van CLAUTRIAU, MOLLE en BARTH anderzijds, die belang inboezemen.

De eerste vond namelijk het zaad van *Atropa Belladonna* vrij van alkaloïde, terwijl de anderen de aanwezigheid van die base daarin konden aantoonen.

Evenwel houden MOLLE en CLAUTRIAU vol dat het endosperm en de kiem er geheel vrij van zijn, terwijl BARTH „vielleicht Spuren" in 't endosperm vindt.

Mijn onderzoek brengt aan het licht, dat de localisatie der alkaloïden bij de 3 bovengenoemde Solanaceae-zaden analoog is, m. a. w. dat het alkaloïde op dezelfde wijze daarin is verdeeld.

De hoofddragers van alkaloïde in die zaden zijn de cellagen die onmiddellijk onder de dikwandige opperhuidscellen (zaadhuid) zijn gelegen, en die aan de binnenzijde door het endosperm worden begrensd. Deze laag is bij *Datura Stramonium* ongeveer 6 cellen, bij de overige 1—3 cellen hoog, welke cellen dunwandig zijn en soms zóó sterk platgedrukt door het aangroeiende endosperm, dat men den inhoud bijna niet meer kan onderscheiden.

Hierdoor wordt het zeer moeilijk in het rijpe zaad alkaloïde aan te toonen, en kan men slechts een zeker resultaat bereiken door het onderzoek van jongere stadia. Opent men een jonge vrucht en maakt men doorsneden door het jonge onrijpe zaad, dan blijkt dat tusschen de ééncellige opperhuidslaag, die de eigenlijke zaadhuid is, en de veelhoekige cellen van het endosperm, eenige lagen cellen gevonden worden, die behalve eiwit en zetmeel, veel alkaloïde bevatten. Naarmate het endosperm groeit, verliezen deze cellen aan volume en worden zij tegen de zaadhuid gedrukt. Alle schijn bestaat er om aan te nemen dat de endospermcellen gevoed worden met den inhoud van de alkaloïde — en voedingstoffen houdende cellagen daarbuiten gelegen. Het is daarom dat deze cellagen

te samen door den Duitscher met den naam van „Nährschicht" worden betiteld.

Een nog moeilijker taak is het, na te gaan òf ook het endosperm alkaloïde bevat, ja dan neen. De groote hoeveelheden eiwitstoffen en druppels vette olie, die in de cellen zijn opgehoopt, maken het zeer bezwaarlijk een alkaloïde-praecipitaat te onderscheiden. Toch nam ik eenige malen in doorsneden van *Datura Stramonium*, die eenige dagen in ioodioodkalium-oplossing hadden vertoefd, een neerslag waar tegen de oliedruppels. Hierdoor echter niet overtuigd van de aanwezigheid van alkaloïde, zocht ik naar een middel om mij in deze zekerheid te verschaffen.

Ik behandelde eenige doorsneden van het zaad van *Datura Stramonium* met petroleum-aether, teneinde het vet uit te trekken, doch ook in de van vet bevrijde doorsneden kon ik geen alkaloïde aantoonen.

Om nu langs macrochemischen weg zekerheid te verkrijgen, òf er in het endosperm alkaloïde aanwezig is, was het noodig het zaad van de opperhuid (zaadhuid) te bevrijden, hetgeen mij dan ook gelukte. Ik stampte daartoe de zaden voorzichtig in een mortier, zóódat de zaadhuid gemakkelijk losliet en controleerde ieder zaadje afzonderlijk.

Daar bij den navel zeer gemakkelijk een gedeelte van de zaadhuid achterblijft, moet dit met het noodige geduld en met oplettendheid geschieden. Bovendien ging ik nog na of soms nog aan de buitenzijde van het gepelde zaad, sporen van het alkaloïdehoudende weefsel, (waardoor het endosperm naar buiten begrensd wordt) aanhingen. De zaden werden namelijk met absolute alkohol afgewasschen, welke werd verdampt; de verdampingsrest werd in twee gedeelten verdeeld en met ioodioodkalium en MAYER's reagens behandeld. Geen praecipitaat werd hierbij verkregen.

2 gram van het gepelde zaad werd nu gekneusd, volgens de methode STAS-OTTO eenige uren op het waterbad uitgetrokken in een kolf, voorzien van een koelbuis. De alcohol werd daarna verdampt, de waterige oplossing gefiltreerd, na toevoeging van absoluten alcohol, deze wederom verdampt en de rest in weinig water opgenomen. Zoowel met MAYER's reagens als met ioodioodkalium werd een overvloedig praecipitaat [1]) verkregen, dat in alcohol zeer gemakkelijk oploste:

In het endosperm (misschien ook in de kiem) *is dus alkaloïde aanwezig.*

1) Ik deed ook een kwantitatieve alkaloïdebepaling in de gepelde zaden, waaruit bleek dat er 0.032 % dus bijna de helft van het geheele zaad in aanwezig was.

Of de kiem alkaloïde bevatte, heb ik niet kunnen nagaan.

Na de overtuiging verkregen te hebben, dat in het rijpe zaad, zoowel het endosperm als de „voedingslaag" alkaloïde bevatte, deed ik eene kwantitatieve bepaling in het oorspronkelijke (ongepelde) zaad van *Datura Stramonium*, zoowel volgens de methode van DIETRICH, als volgens die van KELLER. Daarna liet ik zaden op een kiemapparaat [1]) kiemen en onderzocht na 6 dagen wederom het zaad, dat toen nog niet gekiemd was; het alkaloïdegehalte was gedaald, doch niet in die mate, dat het mij voldoende overtuigde.

Toen de radicula te voorschijn kwam en de kiemen ± ½ cM. lang waren, werden de zaden met de kiemen wederom gedroogd, en daarvan kwantitatieve bepalingen verricht. Een sterke daling bleek nu het alkaloïde-gehalte ondergaan te hebben. Nog sterker bleek deze daling te zijn, toen de kiemen 1—1½ cM. lang waren. Het alkaloïde-gehalte in

Rijp zaad bedroeg . . . . . 0,074 %

---

1) Dit bestond uit een poreuze plaat aardewerk met gleuven voorzien waarin de zaden werden gelegd. De plaat werd in een zinken bak geplaatst waarin zich nat zand bevond, en met een poreuze deksel gesloten. Dit toestel wss afkomstig van J. MICHEL te Kaiserslautern.

Zaad, toen de kiemen ± ½ cM. waren.. 0,044 %
„ „ „ „ 1 „ „ 0,021 %

Tijdens de kieming is dus alkaloïde verloren gegaan. Mijne resultaten stemmen daarin met die van BARTH overeen.

Onderzoekt men nu het kiemplantje microchemisch, dan neemt men waar, dat, behoudens *nú* en *dàn* in het vegetatiepunt, (dus gewoonlijk) geen alkaloïde is aan te toonen. Ook macrochemisch is hiervan geen spoor te vinden. Er zou nu wel sprake kunnen zijn van eene verhuizing van alkaloïde van het zaad naar het vegetatiepunt, doch er is reden om dit niet aan te nemen. Immers bewees reeds CLAUTRIAU, dat uit zaden van *Nicotiana Tabacum*, die vrij zijn van alkaloïde, een plantje kiemde dat in het vegetatiepunt die base toch bevatte. Dit moet dus tijdens de kieming gevormd zijn. Wanneer men dientengevolge aanneemt, dat ook bij *Datura S.* het alkaloïde, dat in het vegetatiepunt dikwijls is aan te toonen, tijdens de kieming ontstaat, dan is dit een reden te meer tot de conclusie over te gaan, dat het alkaloïde, oorspronkelijk in het zaad aanwezig, tijdens de kieming in andere stikstofhoudende verbindingen is omgezet, onder den invloed van de diep ingrijpende stofwisselingsprocessen.

Om nu verder na te gaan op welk tijdstip voor het eerst alkaloïde in de kiemplant optreedt, volgde ik den groei van deze op den voet, en reageerde in de doorsneden van alle organen op de aanwezigheid daarvan.

In een stadium, waarin boven den grond van het jonge plantje nog niets te onderscheiden was dan de hypocotyle as met de 2 nog in vertikalen stand tegen elkaar liggende zaadbollen, was nog niets aanwezig.

Een week daarna gelukte het mij enkele malen in 't vegetatiepunt alkaloïde aan te toonen. Er waren toen, behalve de zaadlobben, 2 jonge blaadjes met het bloote oog zichtbaar; deze waren vrij van alkaloïde.

3 weken na dit laatste onderzoek was er in den toestand geen verandering gekomen, totdat in de 4de week alkaloïde werd aangetroffen op andere plaatsen dan in het vegetatiepunt.

Stengel: Alleen in den vaatbundel en wel in jonge vaten van den binnensten phloeembundel.

Blad: Noch in de jongste, noch in de oudste blaadjes bevatte het bladparenchijm alkaloïde, evenmin de epidermis. Alleen in de bladnerven waren

het parenchijm en de jonge vaten zoowel van het xyleem als phloeem er de dragers van.

Wortel: Niets.

Toen wederom 14 dagen later de bloemknop werd onderzocht, bleek, dat alleen in de lange haren op den kelk gezeten, een gering praecipitaat van alkaloïde met ioodioodkalium ontstond. In het *Bloemstengeltje* was het alkaloïde gelocaliseerd in de zetmeelscheede en daarbinnen in het parenchijm, terwijl ik kon nagaan, dat de grootste hoeveelheid voorkwam in de onmiddellijke nabijheid van den bloembodem.

De localisatie resumeerende komen wij tot de volgende gegevens.

Terwijl in het zaad alkaloïde aanwezig is in de voedingslaag en endosperm, verdwijnt het daaruit tijdens de kieming.

In het jeugdige kiemplantje is geen alkaloïde aanwezig. Dit treedt 't eerst op in het vegetatiepunt. Na 4 weken ongeveer treedt alkaloïde op in jonge vaatbundelelementen en wel in het phloeem.

Het alkaloïde komt dus op plaatsen te voorschijn, waar de stofwisseling intens is. Ook het in groote

hoeveelheid voorkomen onmiddellijk onder den bloembodem wijst hierop.

Atropa Belladonna. L.

Nadat ik zaden van deze species in vochtige lucht had laten weeken, maakte ik daarvan doorsneden en onderzocht deze microchemisch op de gewone wijze.

Het alkaloïde bleek ook hier in de voedingslaag te zijn gelocaliseerd; alleen is deze niet zoo breed als bij *Datura S.* Microchemisch kon ik in het endosperm niets aantoonen, doch macrochemisch was het mij mogelijk ook daarin de aanwezigheid van plantenbase te ontdekken.

Ik liet nu zaden in den grond kiemen en onderwierp, zoodra dit geschied was, het kiemplantje aan een nader onderzoek. Met de punt van een praepareernaald werd het weefsel zoo voorzichtig mogelijk uiteengereten en in JJK-oplossing gebracht; bij de meeste kiemplantjes werd nergens praecipitaat waargenomen; slechts bij enkele was alkaloïde aan te toonen. Het gelukte mij echter niet met zekerheid uit te maken, of de epidermis dan wel het onmiddellijk daaronder gelegen weefsel de drager daarvan was.

Noch de zaadlobben, noch het worteltje bevatte alkaloïde.

In het vegetatiepunt werd een enkele maal, na langdurig verblijf in het alkaloïde-reagens, alkaloïde aangetoond. Meestal vond ik het echter niet.

10 dagen later werden de eerste sporen duidelijk in de epidermis van het stengeltje aangetroffen, welke in hoeveelheid langzamerhand toenamen, naarmate de plantjes ouder werden. Behalve de epidermis was ook het schorsparenchijm, en zelfs de zetmeelscheede drager van alkaloïde.

In den vegetatiekegel is niet het uiterste gedeelte alkaloïde houdend. Daar waar het vaatbundelsysteem zich begint te differentieeren, vindt men het in alle cellen.

De zaadlobben waren er vrij van.

Blad — alleen in de epidermis, zoowel van den steel als van den bladschijf.

Wortel — niets.

Na ongeveer 7 weken bestonden de planten schijnbaar uit een wortelrozet met 8—10 bladeren en een wortel van 7—8 cM. lengte.

Stengel. Deze was uit den aard der zaak zeer gedrongen. Het alkaloïde is gelocaliseerd in vele

cellen van het merg; terwijl minder alkaloïde in de epidermis en het schorsparenchijm gehuisvest was als in het vorig stadium.

Jongste blaadjes om het groeipunt gebogen, hielden alkaloïde in de opperhuid.

Blad in iets ouder stadium. Ook hier in alle cellen van de epidermis, schorsparenchijm en zetmeelscheede van den steel, terwijl onmiddellijk aan de binnenzijde dier zetmeelscheede grenzende vezels met nog niet verhoute wanden ook met alkaloïde waren gevuld. Ook in het vaatbundelparenchijm en jonge vaten, voornamelijk in 't phloeem, zoowel in de epidermis boven- en onderzijde als in alle parenchijmcellen bevatte de bladschijf alkaloïde.

Oudste blad. Dit had voor het grootste deel zijn alkaloïde verloren. Nog weinig was er slechts in de opperhuid en het parenchijm van den bladschijf aanwezig. Ook de steel was er arm aan. Het weinige, hetgeen aan te toonen was, bevond zich in analoge deelen als in het jonge blad.

Wortel. Dit orgaan was flink ontwikkeld, zoodat secundaire diktegroei in vrij sterke mate was ingetreden. Hoewel het veel zetmeel bevatte en daardoor het toepassen van ioodiood-kalium als reagens bemoeilijkt werd, was het toch mogelijk

het schorsparenchijm als hoofdzetel aan te wijzen.

Met MAYER's reagens ontstond namelijk in die cellen een ongekleurd praecipitaat, dat na de gewone contrôle niet meer te voorschijn kwam. Bovendien behandelde ik doorsneden, waarvan de overmaat MAYER's reagens afgewasschen werd, met H_2S-water, en zag nu in de cellen van het schorsparenchijm een zwart praecipitaat, dat intenser van kleur was als die van de overige cellen. Evenzoo ging het met goudchloride.

Bij uitzondering nam ik soms waar, dat ook de mergstralen, zoowel binnen als buiten het cambium, alkaloïde bevatten.

Er is dus ook hier na kieming in den eersten tijd geen alkaloïde in de kiemplant aanwezig. Voor 't eerst treedt alkaloïde op in de epidermis en in het vegetatiepunt, dan in het schorsparenchijm, eindelijk in zetmeelscheede, jonge vaatbundelelementen en merg, terwijl de hoeveelheid in de epidermis aanwezig, blijkbaar afneemt, naarmate het alkaloïde in de andere weefsels optreedt en toeneemt.

Hyoscyamus niger. L.

Analoog met de localisatie van alkaloïde in

Atropa B. en *Datura Str.*-zaden was die in het zaad van *Hyoscyamus niger.* Ook hier vond ik de voedingslaag als hoofdzetel, terwijl het endosperm microchemisch twijfelachtige reacties gaf. Naar analogie met de *Datura*-zaden zou men echter wel mogen aannemen dat ook het endosperm alkaloïde bevat. Het praecipitaat van alkaloïde in versch zaad vergelijkende met dat in éénjarige zaden, nam ik waar dat in het versche zaad de voedingslaag een sterkere alkaloïde-reactie vertoonde dan in het andere, en tevens vond ik de reacties in het endosperm in het eerste geval twijfelachtiger dan in het tweede. Met MAYERS reagens nam ik in oudere zaden namelijk in het endosperm een kleurloos praecipitaat waar. Na uitwasschen van de overmaat reagens en behandelen met zwavelwaterstofwater was ook het endosperm donker gekleurd, hoewel niet zóó zwart als de voedingslaag. Na contrôle volgens de methode ERRERA werd deze reactie niet meer verkregen.

Hieruit kan men afleiden dat in het endosperm het alkaloïdegehalte toeneemt met den ouderdom van het zaad, terwijl het in de voedingslaag afneemt.

Dit was eene aanleiding om macrochemisch het zaad in verschen en éénjarigen toestand kwanti-

tatief op het alkaloïdegehalte te onderzoeken.

Terwijl het gemiddelde van eene serie van 3 analysen in versch zaad een gehalte van 0.091 % alkaloïde aanwees, bedroeg dit gehalte in een gegedeelte van dezelfde partij zaad, tot het voorjaar bewaard: 0.052 %.

Wanneer men nu in aanmerking neemt dat het alkaloïde uit de voedingslaag tijdens bet bewaren van het zaad in het endosperm overgaat, dan leidt dit tot de conclusie dat er in dat endosperm in dien tijd alkaloïde verwerkt werdt.

Nadat ik zaad uitgezaaid had en de kiemplanten te voorschijn kwamen, onderzocht ik deze. Er was geen alkaloïde in te ontdekken; noch in de zaadlobben, noch in de hypocotyle as, noch in het worteltje.

Het eerst trad het in het vegetatiepunt op, in alle cellen, te beginnen bij de plaats waar de vaatbundels zich beginnen te differentieeren, terwijl naar beneden toe het alkaloïde snel afneemt, zóó dat slechts een smalle strook alkaloïde-houdend is.

Na dit onderzoek duurde het nog ± 3 weken vooraleer ik tot het maken van doorsneden kon overgaan.

In dien tusschentijd behielp ik mij met het

nagaan van de localisatie in fragmenten, die ik door middel van de prepareernaald verkreeg. Er ontstond met JJK, MAYER's reagens en kaliumbismuthiodide wel in vele cellen een praecipitaat, doch kon ik niet met zekerheid uitmaken of het in epidermiscellen of in parenchijm geschiedde.

In doorsneden vond ik als drager van alkaloïde in:

de hypocotyle as en *stengeltje:* epidermiscellen en soms eenige parenchijmcellen onmiddellijk daaraan grenzende.

den bladsteel: de epidermis en de zetmeelscheede.

De bladschijf en de zaadlobben bevatten niets.

In *den wortel* wordt alkaloïde in de epidermis cellen aangetroffen. Naar den worteltop toe neemt het gehalte af, zoodat bijna $^2/_3$ gedeelte van het worteltje alkaloïdevrij is.

Een maand later hadden de zaailingen een bladerrozet uit ongeveer 7 blaadjes bestaande.

De *oudste bladschijven* waren geheel vrij van alkaloïde; eveneens de grootste bladschijven, die in ouderdom het midden hielden tusschen de oudste en jongste.

De *bladsteelen* hielden alkaloïde gelocaliseerd in de epidermis, zetmeelscheede en in zeer langgerekte cellen (vezels) tusschen deze en den vaatbundel.

In een *zeer jongen bladschijf* van 0,5 cM. lengte was het in de epidermiscellen aan te toonen van boven- en onderzijde.

De *bladsteel*, die dezen schijf droeg, was zeer rijk aan alkaloïde in de epidermis, doch ook alle schorsparenchijmcellen waren in het bezit daarvan.

Hoofdwortel. De epidermis die uit verweerde cellen bestond, tevens het verweerde weefsel daaronder gelegen, was vrij van alkaloïde. Het levende schorsparenchijm, n.l. 3 a 4 rijen cellen daarvan, liet in zijn inhoud overvloedig alkaloïde aanwijzen.

De *zijwortels* bezitten daarvan niets.

Het alkaloïde treedt dus voor 't eerst in het vegetatiepunt op, daarna in de epidermis van àlle organen behalve in den bladschijf. Er is echter ook hier een stadium waarin noch zaad, noch kiemplant alkaloïde bezit.

Tevens blijkt het zaad alkaloïde te verliezen tijdens het volkomen rijpen en ouder worden.

B. *Conium maculatum. L.*

De localisatie in de vrucht van deze plant is door velen bestudeerd. Daar niet allen éénstemmig tot hetzelfde resultaat komen, vermeld ik hier in

't kort, welke meening hieromtrent de onderzoekers zijn toegedaan.

ANEMA [1]) vond in de onrijpe vrucht, „dat het alkaloïde zich bevond in eene bepaalde cellenrij (binnenste opperhuid) om het endosperm; in de geheele opperhuid en in vele der tusschen beide epidermen zich bevindende cellagen. Geheel rijpe vruchten gaven hetzelfde resultaat, doch schenen minder alkaloïde te bevatten in de opperhuid om het endosperm.

Slechts ééns is het mij gelukt in een nog groene nagenoeg volwassen vrucht in enkele endospermcellen een praecipitaat te zien ontstaan, dat echter reeds na twee seconden weer verdwenen was."

ROSOLL [2]) zegt het coniïne hoofdzakelijk in actieve weefsels aangetroffen te hebben. „Van daaruit beweegt zich het alkaloïde naar de periphere deelen der plant, zooals in het collenchijm, de sluitcellen in de epidermis en de buitenste lagen der vrucht; het dient hier blijkbaar tot bescherming der planten tegen dierenvraat."

CLAUTRIAU [3]) is van meening dat het meeste alkaloïde in de 2 lagen cellen, naar buiten het

---

1) ANEMA loc. cit. pag. 57.

2) Bot.-Centralblatt 1894, p. 174.

3) Ann. d. l. soc. belge de microscop. T. 18 1894, p. 35.

endosperm begrenzende, aanwezig is, n.l. in de „cellules cubiques et cellules tabulaires." Daarenboven vond hij het ook in epidermis en parenchijm van het pericarp en sporen in het endosperm, welke hij aanneemt door diffusie aldaar te zijn gekomen.

Ook TSCHIRSCH [1]) hield evenals een zijner leerlingen ELFSTRAND [2]) de z. g. coniïne-laag (binnenste laag van den vruchtwand) voor den hoofdzetel, doch zij voegen daarbij, dat ook de overige deelen van den vruchtwand, voornamelijk de epidermis, alkaloïde bevatten.

Zoowel BARTH [3]) als ik vonden geen voldoende zekerheid om de aanwezigheid van alkaloïde in de epidermis aan te toonen. In het parenchijm tusschen de epidermis en de binnenste cellaag van den vruchtwand (coniïne-laag) vond ik vooral in de ribben en wel om den vaatbundel altijd alkaloïde, terwijl ook mij de z. g. coniine-laag daaraan het rijkste toeschijnt. In de groeven vond ik gewoonlijk geen of weinig alkaloïde.

Met JJK gelukte het mij niet in het endosperm met zekerheid alkaloïde aan te toonen.

---

1) TSCHIRSCH en OESTERLE Anatomischer Atlas der Pharmacognosie und Nahrungsmittelkunde. Leipzig 1895—98. pag. 160.

2) Studier öfver alkaloïdernas lokalisation. Upsala universitets ärsskrift 1895. pag. 117.

3) loc. cit. pag. 296.

MAYER's reagens gaf in dezen betere uitkomsten. Na afwasschen van het overtollige reagens in water, werden de doorsneden in H_2S-water gebracht en zag ik nu dat in het buitenste gedeelte van het endosperm de cellen veel donkerder gekleurd als meer naar binnen. In „leege" doorsneden (die alvorens met H_2S-water behandeld te zijn, in wijnsteenzure alcohol waren uitgewasschen) zag ik het endosperm overal in gelijke mate donker gekleurd. Het alkaloïde schijnt dus voornamelijk aan de peripherie van het endosperm voor te komen.

De kiemplanten, die ik uit Conium-zaden verkreeg, en waaraan met het bloote oog één stengelblaadje zichtbaar was, bevatten in geen orgaan, noch hypocotyle as, noch stengeltje noch zaadlobben, noch worteltje eenig alkaloïde. Ook het jonge blad, waarvan de bladsteel, zoowel als de bladschijf werd onderzocht, was er vrij van.

Na verloop van een maand werden eenige exemplaren onderzocht, waarin eindelijk eenige alkaloïdereactie verkregen werd en wel het eerst in de epidermis van den stengel en den bladsteel. De bladschijf van het jongste zoowel die van het oudste blad bevatte niets. In het phloeem van den stengelvaatbundel ontdekte ik in groote cellen met

wijd lumen bruinrood gekleurde korrels (ik bezigde JJK als reagens), die bleken te liggen in zeefvaten, en wel in een dunne laag tegen de zijwanden. Ook ANEMA vond dit zetmeel, dat hij *Florideën*-zetmeel noemt, op dezelfde plaats, terwijl dit ook door TREUB in [1]) *Pangium edule* is gesignaleerd.

Terwijl in den vruchtwand en ook in het zaad zelve alkaloïde aanwezig is, blijft hiervan na kieming in de kiemplant niets meer over. Bovendien is het een bekend feit dat de onrijpe *Conium*-vruchten rijker zijn aan plantenbasen dan rijpe. Er heeft dus tijdens het rijp worden en kiemen verlies aan alkaloïde plaats, zonder dat dit verlies door een minder noodzakelijke behoefte aan bescherming tegen dierenvraat wordt gewettigd. Deze noodzakelijkheid blijft toch, zoo zij tijdens die stadia niet nog van meer dringender aard is geworden, na kieming of tijdens het rijpen evenzeer bestaan.

Tevens volgt uit het onderzoek der kiemplanten van *Conium* dat zij langeren tijd vrij van alkaloïde zijn dan andere. Eerst in de 4e week kon het microchemisch worden aangetoond in de epidermis van den stengel en den bladsteel.

---

1) Ann. du jardin botanique de Buitenzorg XIII. pag. 28.

C. **de Papilionaceae:** *Cytisus Laburnum L.*
Lupinus luteus L.

Het cytisine, dat in betrekkelijk groote hoeveelheid in de zaden, doch ook in alle andere organen dezer plant aangetroffen wordt, heeft een onderwerp van studie uitgemaakt voor velen, doch hebben wij aan onze landgenooten v. d. Moer [1]), Plugge [2]) en Rauwerda [3]) de belangrijkste gegevens daaromtrent op chemisch, physisch en physiologisch gebied te danken. Van der Moer stelde o. a. de formule C_{11} H_{16} N_2 O voor cytisine vast, vond een nieuwe bereidingswijze, eene karakteristieke reactie, en toonde de indentiteit van cytisine met ulexine aan, welk alkaloïde in *Ulex europaeus L.* voorkomt. De zaden zijn 3—5 mM. groot, langwerpig met

1) J. v. d. Moer. Over cytisine, het vergift van den gouden regen en over de indentiteit van cytisine en ulexine. Diss. Groningen 1890.

2) P. C. Plugge. Onderzoekingen over het voorkomen van cytisine in verschillende Papilionaceae. Nederl. Tijdschr. voor Geneeskunde 1895. II, pag. 485.

3) P. C. Plugge en A. Rauwerda. Voortgezette onderzoekingen over het voorkomen van cytisine in verschillende Papilionaceae Nederl. Tijdschr. voor Pharm. Chemie en Tonicol, 1896, pag. 331 en 1897, pag. 353. Zie verder ook

Gerrard en Symons. Pharmac. Journal und Transactions 1889. 22 Juni pag. 1029.

Kobert. Deutsch. Med. Wochenschrift 1890, 8 Mai pag. 406.

Partheil. Archiv. der Pharm. Bd. 230, pag. 448. Bd. 232, pag. 161.

Buchka und Magelhaës. Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 24, pag. 253 en 674.

Dr. J. Lammers. Arch. d. Pharm. Bd. 235, pag. 374.

bolle onder- en bovenzijde, donkerbruin tot zwart. Naast den duidelijk zichtbaren hilus ligt een uitpuilend gedeelte, waarin de kiem is verscholen.

De microscopische bouw van het zaad nagaande vindt men dat de hoornachtige, zwartgekleurde zaadhuid bestaat uit 1°. eene laag radiaal gestrekte sclerenchijmcellen, die palissadevormig, vast aan elkaar grenzen. In het smalle lumen van deze cellen is de nog aanwezige celinhoud als een zwartgroen klompje te onderscheiden; 2°. een laag dikwandige cellen door groote intercellulaire ruimten van elkaar gescheiden; zij zijn van boven smal en loopen als een glazen kolf naar beneden toe wijd uit; 3°. 6—8 lagen dunwandige parenchijmcellen (bij den hilus soms 12 lagen) die eerst rond, naar binnen toe tangentiaal gerekt zijn en de binnenste zaadhuid vormen.

De zaadlobben volgen daarop en hebben aan de buitenzijde een kleincellige epidermis met verdikte cuticula, terwijl het binnenste weefsel uit meer langgerekte cellen bestaat, die gevuld zijn met aleuronkorrels.

Localisatie in het zaad. De sclerenchijmcellen van de zaadhuid bleken geen cytisine te bevatten. Zelden was zulks ook het geval met de tangentiaal gerekte dunwandige cellen die daaronder volgen:

in den regel kon het daarin niet worden aangetoond.

De zaadlobben zijn de hoofddragers van alkaloïde. Laat men doorsneden hiervan eenigen tijd (10 minuten) in JJK-oplossing liggen, dan neemt men onder het microscoop waar, dat buiten de cellen langzamerhand een kristallijn neerslag in den vorm van roodbruine naalden ontstaat. Dit neerslag lost gemakkelijk in alcohol van 90% op.

Wanneer men de zaden voorzichtig van de zaadhuid ontdoet, en de zaadlobben met kiem, met water uitkookt, dan neemt men waar dat JJK, MAYER's reagens, tannine-oplossing, in 't kort de voornaamste alkaloïde-reagentia een overvloedig praecipitaat met de gefiltreerde oplossing geven, welk praecipitaat wederom gemakkelijk in alcohol oplosbaar is.

Kookt men nu ook de zaadhuid afzonderlijk met zuur water uit, dan verkrijgt men geen alkaloïde-reactie.

Deze resultaten werden bevestigd door het microchemisch onderzoek met MAYER's reagens en zwavelwaterstofwater. Ik kon in „volle" doorsneden met deze 2 reagentia een zwart praecipitaat in de cellen van de zaadlobben waarnemen, terwijl in „ledige" doorsneden slechts een grijsgekleurd praecipitaat ontstond.

In de kiem kon ik niet met zekerheid alkaloïde aantoonen.

Zoodra het kiempje uit het zaad te voorschijn kwam, onderzocht ik dit microchemisch en kon ik in de meeste gevallen reeds alkaloïde in de epidermis aantoonen. Enkele malen echter kon ik geene reactie te voorschijn roepen met JJK, MAYER's reagens en kaliumbismuthiodide. Toen de plantjes ongeveer 3 cM. hoog waren, was in de zaadlobben eene vermindering van alkaloïde onder 't microscoop duidelijk waar te nemen. Om mij echter van deze vermindering te overtuigen, bepaalde ik naast elkaar kwantitatief het cytisinegehalte in ongekiemde zaden en in deze kiemplantjes. Daar deze in water gekiemd waren, had geen vermeerdering van drooggewicht plaats, en toch bleek uit deze bepalingen dat de hoeveelheid alkaloïde sterk was afgenomen.

Ongekiemd zaad bevatte gemiddeld 1.731% } cytisine.
De kiemen bevatten „ 0.462% }

Niettegenstaande deze vermindering in toto, was er in de hypocotyle as meer alkaloïde aan te toonen als te voren. Want nu was dit behalve in de epidermis, ook hier en daar in cellen onmiddellijk daaronder gelegen, aanwezig. Het worteltje was er vrij van.

14 dagen daarna was de localisatie in de planten, die nu een stengelblad gemaakt hadden, veranderd, tenminste in de

Hypocotyle as. In de nabijheid van het worteltje was het cytisine bijna uit alle epidermiscellen verdwenen. Slechts enkele vertoonden het alkaloïdepraecipitaat. Hooger op, in de nabijheid der zaadlobben was de localisatie dezelfde gebleven als vroeger.

Zaadlobben. Alle epidermiscellen zoowel van boven- als onderzijde bevatten nog alleen het alkaloïde, terwijl vroeger het alkaloïde in alle cellen verspreid was en in het zaad de zaadlobben de hoofddragers van het cytisine waren.

Stengeltje. Alkaloïde in de epidermis.

1e *Blad.* In epidermis van de bovenzijde, bij uitzondering in de epidermis der onderzijde.

Worteltje. Niets.

Wederom 14 dagen na het vorig stadium waren aan de plant 3 jonge 3-tallige blaadjes ontwikkeld. De localisatie van het cytisine was niet in het oog loopend veranderd. Alleen was merkbaar dat van beneden af het alkaloïde uit de epidermiscellen van de hypocotyle as verdween, terwijl deze daar ter plaatse aanmerkelijk in dikte was toegenomen.

Hoe ouder de plant nu wordt, des te meer verdwijnt het alkaloïde uit de epidermiscellen van de hypocotyle as en den stengel, terwijl het zich in planten van 2 maanden oud, reeds in het parenchijm, waarin vóór dien tijd slechts zeer geringe sporen voorhanden was, vertoont. Tevens treedt op dezen leeftijd op den voorgrond het feit, dat het worteltje, aanvankelijk geheel vrij van alkaloïde, nu in de epidermis en in eenige cellen onmiddellijk daaronder, alkaloïde laat aanwijzen.

Uit het onderzoek van *Cytisus Laburnum* blijkt dus 1°. dat, in tegenstelling met de zaden van de *Solanaceae*, de cellen van de zaadhuid geen of soms misschien sporen alkaloïde bevatten.

2°. dat het alkaloïde van het zaad voor verreweg het grootste gedeelte, (zoo niet alles) in de zaadlobben voorkomt. Het komt hier voor in dezelfde cellen, welke voor een groot deel gevuld zijn met aleuronkorrels, die bij de kieming worden verbruikt.

3°. dat na kieming het alkaloïde-gehalte vermindert.

4°. dat het cytisine voor 't eerst optreedt in de epidermis, doch later uit de epidermis verdwijnt om in meer dieper gelegen weefsels wederom te voorschijn te komen.

Lupinus luteus. L.

De alkaloïden lupinine (kristalliseerbaar) en lupinidine (vloeibaar) die in deze voor den landbouw belangrijke plant aanwezig zijn, hebben aanleiding gegeven tot vele onderzoekingen, waarvan de resultaten tegenstrijdig waren. Vóórdat BEREND [1]) voor lupinine de formule C_{21} H_{40} N_2 O_2 en voor lupinidine de formule C_8 H_{15} N had vastgesteld, bestonden er 5 empirische formules voor lupinine. Die van BAUMERT [2]) bleek de eenige juiste te zijn. Uit de onderzoekingen blijkt verder dat er 5 lupinealkaloïden zijn, waarvan voorkomen:

lupinine-lupinidine } in Lupinus luteus en niger L.

rechts-lupanine [3]) in Lupinus angustifolius L.

rechts lupanine
inaktief „ [4]) } in Lupinus albus L.

rechts lupanine
een nog onbekend alkaloïde } in Lupinus perennis L.

---

1) BEREND. Arch. d. Pharm. Bd. 235, pag. 262.

2) Habilitationsschrift „Lupinin." Zie verder over Lupine-alkaloïden: L. S. DAVIS. Die lupanine der weissen Lupine. Arch. d. Pharm. Bd. 235, pag. 199.

K. GERHARD. Ueber die alkaloïde der schwarzen Lupine ibidem, pag. 342.

3) C_{15} H_{24} N_2 O.

4) + C_{15} H_{24} N_2 O. — C_{15} H_{14} N_2 O.

De zaden van *Lupinus luteus* zijn 5—8 mM. lang, niervormig, grijs van kleur met donkerbruine tot zwarte vlekken, die soms een slangenhuidachtige teekening vertoonen. Naast den hilus vertoont de zaadhuid eene verhooging, waaronder de eigenlijke kiem (plumula en radicula) gevonden wordt.

Microscopische bouw van het zaad. De lederachtige zaadhuid bestaat, zooals bij vele Papilionaceae-zaden het geval is, eerst uit een laag sclerenchymcellen, die radiaal gestrekt, onmiddellijk tegen elkaar liggen en slechts een klein lumen vertoonen. Hier en daar vindt men een groepje dat donkergekleurd is, overeenkomende met de teekening op het zaad, van buiten af te zien. Daarop volgt een laag dikwandige rechthoekige tot vierkante cellen zonder inhoud (alleen lucht), die naar de binnenzijde begrensd worden door tangentiaal gerekte, doch ook soms ronde parenchymcellen. Deze vormen een laag van ± 10 cellen dikte; alleen daar, waar zij de kiem omgeven, dubbel zoo dik. [1]) Naar binnen toe treft men verder de zaadlobben aan, waarvan de epidermis kleincellig is, evenals de laag van cellen onmiddellijk daaronder. Verder zijn zij groot en polyedrisch.

Joodioodkalium-oplossing geeft met de lupine-alka-

1) Tegen de zaadlobben zijn deze parenchijmcellen sterk platgedrukt.

loïden in de cellen een amorph bruin praecipitaat met blauwen weerschijn bij het op- en nederdraaien der micrometerschroef, en zijn die basen daardoor gemakkelijk op te sporen.

In het zaad werd deze blauwe weerschijn niet waargenomen. Alleen in de cellen van de cotylen werd een duidelijk amorph bruin praecipitaat verkregen, dat in „ledige" doorsneden niet teruggevonden werd. Ook langs macrochemischen weg bleek mij dat de zaadlobben, die het zaad voor 't grootste gedeelte opvullen, dragers zijn van alkaloïde. Ook in de kiem zijn sporen aan te toonen.

Den 23sten Maart werden zaden uitgezaaid en de daaruit gekiemde plantjes aan een microchemisch onderzoek onderworpen. Toen de radicula te voorschijn kwam, bevatten alleen de zaadlobben alkaloïde, doch scheen dit hierin reeds verminderd. Na 5 dagen was de hypocotyle as reeds vleezig genoeg om het maken van doorsneden mogelijk te maken. Zoowel met JJK-oplossing als met kaliumbismuthiodide ontstond een overvloedig alkaloïde-praecipitaat in vele cellen binnen den vaatbundelkring. In den vaatbundel was alleen het parenchijm drager van alkaloïde. Daarbuiten bedroeg het aantal rijen cellen 26, waarvan de 10 binnenste (dus grenzende aan

den vaatbundel) alkaloïde bevatten. In de zaadlobben werd nu slechts weinig praecipitaat verkregen, vergeleken met hetgeen in het zaad was waargenomen.

Ongeveer 14 dagen na uitzaaien werd in den *stengel* het volgende waargenomen: terwijl in het vorig onderzocht stadium het alkaloïde buiten den vaatbundelkring geconcentreerd was in de 10 binnenste lagen van het schorsparenchijm, had het zich nu reeds over de meeste schorsparenchijmcellen verspreid tot zelfs in de epidermis. In den vaatbundel was wederom het parenchijm van hout- en bastgedeelte de hoofdzetel, terwijl enkele jonge bastelementen ook eenig alkaloïde huisvestten.

Wortel. De epidermis is vrij van alkaloïde, daarentegen komt het voor in de meeste schorsparenchijmcellen, evenals in het parenchijm van den vaatbundel en in jonge bast-elementen.

In de *zaadlobben* was het alkaloïde alleen nog in de epidermis aanwezig.

14 dagen na het vorig stadium was in de *zaadlobben* alleen nog eenig alkaloïde in de epidermis van de binnenzijde aanwezig.

In den *stengel* en den *wortel* was de localisatie dezelfde gebleven, met dit onderscheid evenwel,

dat alleen zeer duidelijk eene vermindering in het schorsparenchijm, merg en ook in de epidermis was waar te nemen.

1e paar *stengelbladeren.* In de bladscheede was in de epidermis (niet in haren) alkaloïde aanwezig, tevens in het parenchijm van den vaatbundel en in het parenchijm, liggende tusschen vaatbundel en de bovenzijde, alwaar het uit 45 rijen cellen bestaat.

Wat den *bladschijf* betreft, bevat deze alkaloïde in de epidermis onder- en bovenzijde; in het parenchijm alleen onder en boven den hoofdnerf.

Ook in den *steel* is de epidermis de drager van de plantenbasen, terwijl zij bovendien hier en daar in den laag onmiddellijk daaraan grenzende en ook in het vaatbundelparenchijm worden aangetroffen.

Onderzoekt men nu een nog verder stadium, dan ziet men dat wat den *stengel* betreft, de vermindering in het parenchijm, merg en epidermis zóóver is gegaan, dat daarin geen alkaloïde meer wordt aangetroffen. Zeer karakteristiek is echter nu de localisatie geworden. Alleen het eigenlijke bastgedeelte, dus het eiwitvoerende phloeem, is de zetel van alkaloïde, en vond ik het niet alleen in *de begeleidende cellen,* maar zelfs hier en daar in *zeefvaten.*

Oudste blad. In den bladschijf was alleen in de

epidermis van de bovenzijde alkaloïde aanwezig, in den steel waren vaatbundelparenchijm en jonge vaten daarvan de dragers.

Jonger blad. Alkaloide in epidermis boven- en onderzijde van den schijf. In den steel was het in dezelfde weefsels als in het oudste blad aanwezig, doch buitendien nog in parenchijmcellen om den vaatbundel, en wat den vaatbundel zelve betreft, in jonge zeefvaten.

In het *jongste blad* was het bladparenchijm de zetel, terwijl de epidermis vrij van alkaloïde was. In den bladnerf bevatten enkele parenchijmcellen om den vaatbundel daarvan een weinig.

Wortel. Vertoonden de schorsparenchijmcellen op vroegeren leeftijd van de plant praecipitaten met de gebezigde alkaloïde-reagentia, nu was daarvan niets te bespeuren, hetgeen ik hierboven reeds voor den stengel constateerde. Ook in den wortel zijn het nu de eigenlijke bast-elementen, die alkaloïde bevatten. De begeleidende cellen zijn er zelfs rijk aan, terwijl in zeefvaten weinig kon worden aangetoond. Het parenchijm van het phloeemgedeelte, dus ook bij de eigenlijke bast behoorende, voerde zelfs ook alkaloïde.

Resumeerende, komt men bij deze plant tot den

hoofdindruk, dat de localisatie van alkaloïde zeer inconstant is. Zijn in het zaad de cotylen daarmede opgevuld, na zekeren tijd is daarin niets of slechts weinig overgebleven. De plaats van het alkaloïde bepaalt zich dan tot cellen in en dicht bij den vaatbundel gelegen, en in de epidermis. Hoe ouder nu de plant wordt, des te meer alkaloïde verdwijnt er uit het schorsparenchijm, epidermis en merg, en is het in den vaatbundel beperkt tot het phloeem gedeelte. De begeleidende cellen zijn er voor een groot deel mede gevuld, terwijl in de zeefvaten weinig wordt aangetroffen.

D. *Coffea arabica L.*

De zaden, die mij van deze plant ter beschikking stonden [1]), waren uit de vruchten genomen en grootendeels van de buitenste zaadhuid bevrijd, zoodat ik alleen het gedeelte binnen de zaadhuid kon onderzoeken.

De zaden bestaan, behalve de kiem, verder geheel uit endosperm, waarvan de veelhoekige cellen afwisselende knoopverdikkingen vertoonen in de

---

1) Den heer J. K. BUDDE, hortulanus van den Hortus te Utrecht, breng ik hier mijn dank voor het bezorgen van deze zaden en voor de vriendelijke welwillendheid, waarmede hij mij tijdens mijn arbeid behulpzaam was.

celwanden. Deze cellen bevatten eene aanmerkelijke hoeveelheid vet (± 16 %) en slijm (± 24 %) en maken daardoor het waarnemen van alkaloïdepraecipitaten moeilijk.

Nadat de doorsneden 5 minuten in JJK.-oplossing hadden vertoefd, was in alle cellen van het endosperm een korrelig praecipitaat aanwezig, en was de verdere inhoud groenbruin gekleurd. In „ledige" doorsneden werd deze reactie niet verkregen. Ook werd dit resultaat bevestigd door het toepassen van MAYER's reagens en (na afwasschen) met H_2S-water.

In de kiem kon ik de aanwezigheid van alkaloïden niet aantoonen. Bevatte het zaad dus alkaloïde, in het kiemplantje kon de aanwezigheid daarvan niet worden bewezen.

De *hypocotyle as* werd zoowel onmiddellijk onder de cotylen (welke nog in het wegterende endosperm waren verscholen) als aan haar voet onderzocht. In een doorsnede op de eerstgenoemde hoogte werd met JJK in de epidermis en in de cellen binnen den vaatbundel (merg) eene grijsbruine verkleuring waargenomen, welke bleek niet door alkaloïde te zijn veroorzaakt. Ook aan den voet van de hypocotyle as werd geen coffeïne aangetoond.

De *cotylen* waren er ook vrij van, evenals de

wortel, terwijl ik hier met nadruk bijvoeg dat ook het endosperm, waarvan nog slechts weinig was overgebleven, geheel vrij van alkaloïde was.

In het *vegetatiepunt* kon ik geen alkaloïde aanwijzen. Men kan uit deze gegevens de conclusie trekken, dat het alkaloïde in het zaad aanwezig, op eene nog onbekende wijze is veranderd in andere stoffen, die niet met alkaloïde-reactieven zijn op te sporen.

E. *Cinchona Ledgeriana.* Moens.

Terwijl alle zaden tot nú door mij ter onderzoek genomen, alkaloïde-houdend zijn en vroeg of laat na kieming het aanzijn geven aan plantjes, die alkaloïde voerden, bevat het zaad van de *Cinchona Ledgeriana* geen alkaloïde. Toch ontstaat daaruit een kiemplantje, dat onmiddellijk na kieming reeds alkaloïde vertoont.

Nadat ik microchemisch de afwezigheid in het kinazaad had aangetoond, controleerde ik dit resultaat nog langs macrochemischen weg.

1°. De Grahe'sche proef bevestigt het verkregen resultaat volkomen. Bij verhitting van het fijn gewreven zaad in een reageerbuisje, werden geen roode dampen waargenomen, die zich tot een bruinroode teer verdichten.

2°. Na uittrekken van 5 gram fijn gewreven zaad met zoutzuurhoudend water (1 zoutzuur v. 12.5 % op 50 water), koken, filtreeren en uitdampen op verschillende horlogeglazen, werd noch met MAYER's reagens, noch met
Ioodioodkalium „ „
Tannine „ „
Pikrinezuur een alkaloïde-neerslag verkregen.

Een gedeelte van het ter mijne beschikking staande zaad werd in gewone tuinaarde, gemengd met zand, uitgezaaid. Na 15 dagen was het zaad zóóver ontkiemd, dat het worteltje zichtbaar was, en de zaadlobben het gevleugelde zaad even boven den grond opschoven.

Op het oogenblik, dat met een loupe het worteltje zichtbaar werd, kon ik reeds in dit orgaan alkaloïde aantoonen, en wel in het schorsparenchijm. De epidermis en de haren, en ook het vaatbundeltje waren er vrij van.

De mogelijkheid was niet geheel buitengesloten, dat het zaad stikstof uit den bodem of uit het begietingswater had opgenomen, en deze dan had medegewerkt om het alkaloïde te vormen.

Om mij van dezen invloed, hoe onwaarschijn-

lijk deze ook zijn moge, te vrijwaren, liet ik zaden kiemen in duinzand, dat vooraf door mij gezuiverd was. Daartoe werd dit zand eerst gezift, uitgegloeid, dan met verdund zoutzuur gekookt, uitgewasschen met gedistilleerd water en gedroogd. De kiembak werd nu met een glazen stolp overdekt en nu en dan met gedistilleerd water begoten. Het bleek nu, dat niet alleen hierin de zaden zeer goed kiemden, doch dat ook de kiemplanten toch onmiddellijk alkaloïde bevatten.

Toen, 5 dagen later boven den grond de hypocotyle as zichtbaar werd, bleek ook deze reeds alkaloïde te bevatten, en wel in het parenchijm tusschen epidermis en vaatbundel (schorsparenchijm); epidermis, haren en vaatbundel bevatten ook hierin geen alkaloïde. Ik had hier reeds gelegenheid op te merken dat er geen verschil in bouw was tusschen alkaloïde-houdende en alkaloïde-vrije cellen. De grootte der cellen, en tevens de dikte van de celwanden zijn in beide soorten gelijk.

De localisatie blijft dezelfde in de hypocotyle as en in het worteltje, wanneer de zaadlobben zich ontplooid hebben. Deze zijn slechts 2 cellagen dik, behalve in de nabijheid van het steeltje, waar de

vaatbundel intreedt. Alleen de cellen, die onmiddellijk den vaatbundel omgeven, bevatten alkaloïde.

Ook een plantje, waaraan het eerste paar blaadjes was ontwikkeld, vertoonde dezelfde localisatie van alkaloïde in de *hypocotyle as* en *worteltje* als voorheen, welke ook dezelfde in het stengellid tusschen de cotylen en het *eerste paar bladeren* bleek te zijn.

Het *bladsteeltje* hield veel alkaloïde in het schorsparenchijn, doch niets in epidermis en haren, terwijl noch het parenchijm, noch de epidermis van den bladschijf alkaloïdehoudend waren.

De *groeitop*, en de jongste blaadjes in aanleg waren eveneens vrij van basen.

Een verder stadium, waarin 2 paar stengelblaadjes, derhalve 3 internodia (de hypocotyle as mede gerekend) ontwikkeld waren, bracht het volgende aan het licht.

1e *internodium* (hypocotyle as): alkaloïde in vele cellen van 't schorsparenchijm, nooit in kristalcellen.

2e *internodium*. Dito.

3e *internodium*. In bijna alle schorsparenchijmcellen was alkaloïde aanwezig, en bleek bij vergelijking met doorsneden van lagere internodia, dat een duidelijke toename naar den top plaats had.

Blaadjes. De steelen houden het alkaloïde alleen in het parenchijm om den vaatbundel vervat, terwijl de bladschijven er overal vrij van zijn. Dáár echter, waar de bladsteeltjes in den schijf overgaan en de laatste dikker is dan 2 cellagen, vindt men ook in 't parenchijm alkaloïde; niets in den vaatbundel en niets in de epidermis.

Resumeerende: het zaad is vrij van alkaloïde, brengt echter een kiemplant voort, waarin reeds op den jongsten leeftijd alkaloïde aanwezig is. Dit bevindt zich dan in cellen van het schorsparenchijm en vormt zich uit stikstofhoudende verbindingen, te voren in het zaad aanwezig.

In 't algemeen zijn altijd parenchijmcellen dragers van alkaloïde en neemt dit, naar den top gaande, in de internodia toe.

Toelichting bij de overzichtslijst.

Wanneer men bij de 3 door mij onderzochte *Solanaceae: Hyoscyamus niger*, *Datura Stramonium* en *Atropa Belladonna*, de localisatie der alkaloïden nagaat:

1e in het rijpe zaad,

2e na kieming in de plant,

dan ziet men dat deze in *het zaad* vrijwel bij allen dezelfde is. Het meeste alkaloïde komt voor in de z.g. „voedingslaag" (ik bewees dit voor *Datura Stramonium* langs macrochemischen weg), maar bovendien trof ik bij *Datura* in het endosperm een belangrijke hoeveelheid aan. Uit analogie kan men veilig aannemen, dat ook in het endosperm van *Hyoscyamus* en *Atropa* alkaloïde voorkomt.

Zoowel MOLLE als CLAUTRIAU vonden, dat bij deze 3 *Solanaceae* endosperm en embryo steeds vrij zijn van alkaloïde, terwijl BARTH over de aanwezigheid van „sporen alkaloïde" in dat weefsel twijfelt.

Overzichtslijst over de resultat

	Datura Stramonium L.	*Atropa Belladonna L.*	*Hyoscyamus nige*
Zaad.	Binnenste lagen van de zaadhuid (voedingslaag) en endosperm.	Dito als *Datura Str.*	Dito als *Datura*
Kiemplantje, zoodra het geschikt was om gepraepareerd te worden.	**Geen alkaloïde.** Nu en dan sporen in het vegetatiepunt.	Dito als *Datura Str.*	Dito als *Datura*
5 dagen na vorig stadium.	Als in vorig stadium.	Als in vorig stadium.	Als in vorig stadi
± 14 dagen na vorig stadium.	Vegetatiepunt.	Vegetatiepunt. Stengeltje. { Epidermis, schorsparenchijm en zetmeelscheede. Blad. { Epidermis.	Vegetatiepunt. Hypocotyle as. Stengeltje. { Epidermis. Bladsteel. { Epidermi zetmeelsch Bladschijf. { Geen alkal Wortel. { Epidermis.
14 dagen na vorig stadium.	Stengel. { Jonge vaten van 't phloëem. Blad { Alleen jonge vaten van den vaatbundel in de bladnerven.	7 weken na kiemen. Stengel. { Merg, minder dan vroeger in epidermis en schorsparenchijm. Jong blad. { Epidermis van steel en schijf. Steel. { Schorsparenchijm, zetmeelscheede, jonge vezels. Oud blad. { Analoge localisatie als jong blad, doch minder alkaloïde. Wortel. { Schorsparenchijm, mergstralen.	

n het localisatie-onderzoek.

ium stum L.	*Cytisus Laburnum L.*	*Lupinus luteus L.*	*Coffea arabica L.*	*Cinchona Ledgeriana.* MOENS.
Parenchijm. Coniïnelaag. binnenste van den htwand.	Zaadlobben.	Zaadlobben.	Endosperm.	Geen alkaloïde.
lkaloïde.	Zaadlobben (doch verminderd).	Zaadlobben (doch verminderd).	Geen alkaloïde.	Hypocotyle as: Schorsparenchijm.
lkaloïde.	Hypocotyle as: Epidermis. Zaadlobben (veel verminderd).	Hypocotyle as: Parenchijm binnen vaatbundelkring en in parenchijm van de vaatbundels. Ook in eenige lagen parenchijm grenzende aan de vaatbundels. Zaadlobben (veel verminderd).	Geen alkaloïde.	Als in vorig stadium.
lkaloïde.	Hypocotyle as: Bovenaan in epidermis. Beneden niet meer. Zaadlobben: Alleen nog epidermis.	Hypocotyle as: Alle schorsparenchijmcellen en vele epidermiscellen. Verder parenchijm van den vaatbundel en jonge bastelementen. Wortel: Meeste schorsparenchijmcellen. Verder dito als hypocotyle as. Zaadlobben: Alleen de epidermis.		Als in vorig stadium; alleen alkaloïde in zaadlobben dáár, waar de vaatbundel intreedt.
	Als in vorig stadium, doch vermindering in epidermis en optreden van alkaloïde in het parenchijm. Wortelt je: Epidermis.	Stengel en wortel als in vorig stadium. Blad: Scheede epidermis, parenchijm van den vaatbundel en bij vaatbundel. Schijf epidermis, parenchijm bij vaatbundel. Steel epidermis, parenchijm van den vaatbundel.		

De resultaten van de localisatie in *de kiemplant* met elkaar vergelijkende, komt men tot de slotsom, dat in den eersten tijd na kieming allen zich op analoge wijze gedragen: *Bij allen komt een stadium voor waarin geen alkaloïde aanwezig is*, behoudens de geringe sporen die gewoonlijk in het vegetatiepunt aanwezig zijn. Enkele malen kon ik het echter ook hierin niet aantoonen. In ieder geval moet men, naar aanleiding van de onderzoekingen van CLAUTRIAU, aannemen dat dit alkaloïde niet uit het zaad daarheen verplaatst, maar tijdens de kieming nieuw gevormd is.

Dit stadium duurt bij de eene langer dan bij de andere kiemplant, doch wordt ook bij de 3 verschillende species wederom gevolgd door een 2e stadium, waarin alkaloïde optreedt.

Is er hierin overeenkomst, anders is dit met de weefsels, waarin de planten-basen bij de Solanaceae, worden aangetroffen.

Komt bij *Hyoscyamus niger* het alkaloïde hoofdzakelijk in de epidermis der verschillende organen voor, bij *Atropa Belladonna* wordt het buitendien nog in het schorsparenchijm aangetroffen, terwijl *Datura Stramonium* geheel in afwijking met de 2 eerstgenoemde, alleen in jonge vaatbundelelementen alkaloïde herbergt.

Waar bij de vergelijking der localisatie bij vertegenwoordigers van éénzelfde plantenfamilie reeds zoo uiteenloopende resultaten verkregen werden, was het niet te verwonderen dat zulks het geval zou zijn bij de vertegenwoordigers van verschillende plantenfamilies, door mij onderzocht.

In de verdeeling van alkaloïde in verschillende weefsels van jonge planten, tot verschillende species behoorende, heerscht geen analogie.

De 5 andere plantensoorten die ik mij koos, kunnen in 2 afdeelingen gesplitst worden, n.l.

1e in die, waarvan het zaad alkaloïde-houdend is.

2e die, waarvan het zaad alkaloïde-vrij is.

Uit beiden ontstonden vroeg of laat planten met alkaloïde.

Tot de 1e soort behooren *Conium maculatum*, *Cytisus Laburnun*, *Lupinus luteus* en *Coffea arabica*, terwijl van de 2e soort alleen *Cinchona Ledgeriana* de vertegenwoordiger is.

Terwijl bij *Conium* en *Coffea* geen spoor van alkaloïde in het jonge plantje kon worden aangetoond, kon dit bij *Cytisus Laburnun* en *Lupinus luteus* zeer vroeg na kieming geschieden. Bij *Conium maculatum* bevatte de plant nog 4 weken na kieming van het zaad geen alkaloïde, terwijl bij *Coffea*

arabica na 3 weken zulks nog het geval was.

Lupinus luteus herbergt in het kiemplantje onmiddellijk na kieming alkaloïde in parenchijmcellen, terwijl bij *Cytisus Laburnum* het eerste optreden in de epidermis plaats heeft. Eerst later vermindert het alkaloïde in de epidermis en treedt het in 't parenchijm op.

Bij *Lupinus luteus* heeft juist het omgekeerde plaats. Later treedt het namelijk hier in de epidermis op.

Zeer verrassend is de toestand bij de vertegenwoordiger der 2e soort: *Cinchona Ledgeriana*. Hier treedt uit het alkaloïde-vrije zaad terstond bij kieming alkaloïde op, dat in parenchijm en niet in epidermis zijn zetel heeft.

Wat de localisatie aangaat in de zaden van de door mij onderzochte niet-*Solanaceae*, blijkt deze verschillen op te leveren. Immers *Conium maculatum* zaden hebben slechts weinig alkaloïde in het endosperm, doch bevat de binnenste laag van den vruchtwand en het parenchijm daarvan de grootste hoeveelheid.

Zeer kenmerkend is het voor de 2 *Papilionaceae* *Lupinus luteus* en *Cytisus Laburnum*, dat beide het alkaloïde in de zaadlobben (die hier het endo-

sperm vervangen) huisvesten. Ook *Coffea arabica*-zaden hebben in het endosperm alkaloïde verzameld.

Het blijkt dus, dat alle alkaloïde-houdende zaden, door mij onderzocht, òf in het endosperm òf in de endosperm-vervangende zaadlobben alkaloïde bevatten.

Gaan wij nu de localisatie van alkaloïde na in een verder stadium, dan ziet men dat, behalve bij *Lupinus luteus*, in de vaatbundel-elementen eerst later alkaloïde kan worden aangetoond. Gewoonlijk zijn het parenchijmcellen of jonge vaten van het phloeem, waaraan men nog geen duidelijke differentiatie kan waarnemen. Bij *Lupinus luteus* gelukte het mij zelfs in begeleidende cellen en in zeefvaten alkaloïde op te sporen. In een onderzoek dat ik bij een volwassen exemplaar van *Cytisus Laburnum* instelde, was het mij bovendien reeds gebleken, dat in de begeleidende cellen in het bastgedeelte van een zijwortel van ± 1 c.M. middellijn, rijkelijk alkaloïde voorkwam.

Ten slotte vermeld ik hier nog eens, dat bij *Cytisus Laburnum* en *Lupinus luteus* met den ouderdom de localisatie verandert en er eene verhuizing plaats heeft: bij *Cytisus L.* van de epidermis

naar de parenchijmcellen van schors en zelfs van het eigenlijke bastgedeelte, bij *Lupinus luteus* uit het parenchijm van den vaatbundel en weinige cellen van den schors naar het schorsparenchijm en de epidermis.

HOOFDSTUK III.

Naar aanleiding der resultaten door het localisatie-onderzoek bereikt, en het feit, dat in alkaloïde-houdende zaden tijdens de kieming alkaloïde verloren gaat, doet zich nu de vraag voor of daaruit gevolgtrekkingen te maken zijn omtrent de beteekenis der alkaloïden voor de plant.

De verschillende opvattingen hierover zijn in het kort de volgende:

I. De alkaloïden dienen als verdedigingsmiddelen tegen aanvallen van buiten, terwijl zij overigens voor de plant nuttelooze afvalprodukten zijn. [1])

II*a*. In vele zaden dienen alkaloïden als voedsel, dat tijdens de kieming, onder den invloed van het kiemplantje, verbruikt wordt. [2])

1) ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU. Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes, p. 27 en CLAUTRIAU, loc. cit.

2) HECKEL, loc. cit.

II*b*. Bij *Datura Stramonium* wordt tijdens de kieming alkaloïde verbruikt, maar dit is niet noodzakelijk voor de kieming. [1])

III. De alkaloïden verhoogen den turgor, terwijl hunne vergiftige eigenschap eene toevallige is. [2])

I. De vergiftige werking op vreemde organismen aan te voeren als de beteekenis der alkaloïden voor de plant, ligt voor de hand, doch berust deze opvatting niet op waargenomen feiten. Het tegenovergestelde is echter bewezen. Wij weten immers dat ook alkaloïde-houdende planten voornamelijk bezocht worden door lagere dieren, die immuun schijnen te zijn tegen de daarin voorkomende vergiften. Een zeer sprekend voorbeeld leveren ons de vele soorten insecten, voornamelijk de *Helopeltis Antonii* [3]), die de *Cinchona*-soorten bezoeken. Dit insect richt vooral verwoestingen aan in de *Ledgeriana*-tuinen, dus juist aan de alkaloïde-rijkste soort. Ook de thee-heesters hebben dikwijls van dit insect te lijden.

Om op de *Cinchona's* terug te komen, is het ons ook bekend dat, behalve schadelijke insecten,

---

1) BARTH, loc. cit.
2) ANEMA, loc. cit.
3) Zie J. C. B. MOENS. De kina-cultuur in Azië.

ook lagere plantaardige organismen, *Fungi*, dikwijls welig in de alkaloïde-rijke bast voortwoekeren. Bovendien weten wij, dat enkele hoogere dieren, als kwartels, leeuwerikken en schapen immuun zijn tegen enkele sterkwerkende vergiften.

Diegenen, die de alkaloïden als verweermiddelen beschouwen, leiden deze zienswijze verder af uit hunne bevindingen:

a. dat de alkaloïden voor de planten zelve vergiftig zijn, dus als zoodanig niet kunnen vervoerd worden;

b. dat zij als excreten door de werkzaamheid van het protoplasma worden afgescheiden, en dus verder geen rol meer spelen in de stofwisseling;

c. dat zij in periphere weefsels voorkomen, alwaar zij gemakkelijk geoxydeerd kunnen worden, en tegelijkertijd dienen tot bescherming.

Dat de alkaloïden voor de planten zelve, waarin zij geproduceerd worden, vergiftig zijn, kan men niet bewijzen; immers de schadelijke werking zou zich toch terstond moeten doen gevoelen bij de vorming, daar deze in het protoplasma zelve plaats vindt. Dit is nu niet het geval; het is integendeel bekend, dat *Fungi* alkaloïde uit verdunde

oplossingen kunnen opnemen. PFEFFER [1]) zegt zelf „das wenn auch kümmerliche Vorkommen gewisser Pilze auf genügend verdünnten Morphium u. s. w. beweist zwar dass die Gifte wiederum den Stoffwechsel anheim fallen können."

Wanneer men aanneemt, dat de alkaloïden door de werkzaamheid van het protoplasma gevormd worden, dan is er geen reden om niet aan te nemen, dat zij ook wederom daardoor kunnen worden ontleed. Trouwens, dit moet het geval zijn, daar de onderzoekingen van BARTH, zoowel als de mijne, dit bewijzen.

De vermindering van de hoeveelheid alkaloïde tijdens de kieming van het zaad bij *Datura Stramonium* [2]) en *Cytisus Laburnum*, het verdwijnen uit de zaadlobben bij *Cytisus Laburnum*, en *Lu-*

1) PFEFFER. Pflanzenphysiologie 1897.

2) Op deze vermindering van alkaloïde bij *Datura Stramonium*, ook door BARTH geconstateerd, werd in den loop van mijn onderzoek kritiek uitgebracht. Zij zoude namelijk veroorzaakt kunnen zijn door het uitloogen van alkaloïde met het water in het kiemapparaat, en tevens door bacteriën, die ontledend zouden inwerken. J. THOMANN (Ueber die Bedeutung des Atropins in Datura-Samen. Bot. Centralblatt. 1899. IV, p. 461) repliceert deze kritiek en komt tot de conclusie dat de vermindering, door BARTH geconstateerd, wel voor een klein deel te wijten was aan uitlooging, doch dat dit feit geen recht geeft te ontkennen, dat toch het alkaloïde-gehalte sterk tijdens de kieming daalt. Hij constateerde dit namelijk ook, nadat hij de zaden, alvorens te laten kiemen, met verdunde sublimaatoplossing afwaschte en het kiemapparaat zooveel mogelijk zuiver hield.

pinus luteus, verder uit het endosperm van de meeste zaden, toonen dit duidelijk aan. Er is nog een gevolgtrekking uit mijne onderzoekingen te maken, die noodzakelijk leidt tot het aannemen van het feit, dat alkaloïden aan de stofwisseling ten goede komen. *Deze is de veranderlijke localisatie in dezelfde plant op verschillenden leeftijd.*

Komt n.l. in de jongste stadia van *Cytisus Laburnum*, behalve in de zaadlobben, het alkaloïde uitsluitend in de epidermis voor, in een ouder stadium vermindert het in de opperhuid en treedt alkaloïde op in het parenchijm. Zooals ik reeds vermeldde, verdwijnt het ook voor het grootste deel uit de zaadlobben. Wanneer nu het alkaloïde niet diffundeert, moet men concludeeren dat het wederom in de stofwisseling is opgenomen, en omgezet in andere stikstofhoudende verbindingen, die geen alkaloïde-karakter meer bezitten.

CLAUTRIAU, die gepelde zaden van *Datura Stramonium* (dus zaden waarvan ook de alkaloïdehoudende voedingslaag verwijderd was) liet kiemen, verkreeg daaruit volkomen normale planten. Hieruit trekt hij de conclusie, dat de kiemplanten dus geen alkaloïde verbruiken, en dat dus het alkaloïde in de voedingslaag, als volkomen nutteloos excreet moet worden opgevat. Hij gaat echter daarbij uit

van het standpunt, dat alléén die voedingslaag alkaloïde bevat, terwijl mijn onderzoek leert dat ± $^1/_3$ gedeelte van het totaal alkaloïde in het endosperm voorkomt. Dit wordt nu tijdens de kieming ontleed en komt zóó de jonge plant ten goede. Uit de proef van CLAUTRIAU kan men dus alléén concludeeren, dat het zaad niet alle alkaloïde noodig heeft bij de kieming. Hoewel de plant echter het alkaloïde van het endosperm verbruikt, ga ik zelfs nog verder dan die conclusie, door aan te nemen dat de plant ook dat alkaloïde zoude kunnen missen. Het doet namelijk geen dienst als reservestof, doch is toevallig in het zaad aanwezig als tusschenprodukt van de eene stikstofhoudende verbinding tot de andere. In het zaad verkeert het in rustenden toestand, om, zoodra in de cellen van het endosperm de eiwitstoffen hun kringloop beginnen, ook aan de algemeene omzetting deel te nemen.

Deze zienswijze sluit echter volstrekt niet uit, dat alkaloïden ook soms als excreten kunnen optreden, evenzeer als andere voor de stofwisseling noodzakelijke plantenstoffen dikwijls als excreten voorkomen. Zoo wordt b. v. de in nectariën afgescheiden suiker aan de stofwisseling onttrokken, evenals eiwitstoffen, zetmeel en vetten, die in melk-

sap worden aangetroffen, en toch in den regel als voedingsstoffen dienst doen.

Ook het argument over het geregeld voorkomen van alkaloïde in periphere weefsels, is niet altijd te verdedigen. Wij hebben namelijk gezien, dat in de kiemplantjes van *Datura Stramonium*, van *Lupinus luteus*, van *Coffea arabica*, van *Cinchona Ledgeriana*, en in de jongste stadia ook van *Cytisus Laburnum*, de epidermis geen alkaloïde houdt, doch het parenchijm om den vaatbundel of jonge vaatbundel-elementen de dragers er van zijn. En juist voor deze kiemplantjes zoude een dergelijk afschrikmiddel toch zeker van groot nut zijn. Ook in de zaden komt het niet in de epidermis voor, doch altijd in een meer centraal gelegen weefsel, terwijl er bovendien alkaloïde-houdende planten gevonden worden, welke zaden voortbrengen, die er geheel van ontbloot zijn.

II*a*. De opvatting, als zouden de alkaloïden in zaden uitsluitend als reservestoffen dienst doen, welke tijdens de kieming worden verbruikt, kan niet in 't algemeen bedoeld zijn. Immers de hoeveelheid, waarin zij voorkomen, zijn gewoonlijk gering, vergeleken met de andere stikstofhoudende reservestoffen. Indirect kunnen zij echter als reserve-

stoffen worden beschouwd, wanneer men de opvatting huldigt dat zij tusschenprodukten zijn, door de werkzaamheid van het protoplasma ontstaan en gemakkelijk in andere stikstofverbindingen overgaande. Deze overgang geschiedt echter niet in ieder weefsel gelijktijdig, en misschien ook niet op dezelfde wijze. In ieder weefsel is immers de inhoud der cellen verschillend, naar gelang de physiologische functie, waaraan dat weefsel beantwoorden moet. Het is daarom niet te verwonderen, dat de alkaloïden in bepaalde weefsels worden aangetroffen, in wier cellen de onderlinge omzettingen der stikstofverbindingen wel ongeveer gelijktijdig plaats vinden. Wanneer men nu daarbij weet, dat in een cel niet alle aanwezige stikstofhoudende verbindingen in eenzelfde stadium van reactie verkeeren, m. a. w. niet alle alkaloïdevormers tegelijkertijd in alkaloïde overgaan, evenmin als alle alkaloïde tegelijkertijd wederom in andere stikstofverbindingen wordt omgezet, dan kan men gemakkelijk verklaren dat betrekkelijk zoo weinig alkaloïde in de plant wordt aangetroffen. Hierin vindt ook het geheel afwezig zijn van alkaloïde in plantendeelen, die anders daarvan zijn voorzien, zijne verklaring. Men kan zich immers voorstellen, dat op een bepaald oogenblik van sterken groei de vraag naar alkaloïde (s. v. v.)

grooter is dan de productie, waardoor wij dus niet in staat zijn de aanwezigheid op dat oogenblik aan te toonen. Dit is bijvoorbeeld het geval bij verschillende kiemplanten, die dán eens niet, dán wederom wèl alkaloïde bevatten.

Daar ik de opvatting van BARTH: II*b*. reeds onder I. heb besproken, rest mij nog terug te komen op de door ANEMA aan alkaloïde-zouten toegekende vermoedelijke eigenschap, den turgor te verhoogen. De osmotische proeven door ANEMA gedaan met oplossingen van zuren en met zure oplossingen van alkaloïde-zouten, bewijzen dat de exosmose bij de eersten de endosmose overtrof, terwijl bij de laatsten het omgekeerde plaats had. Hieruit volgt, dat de oplossingen van alkaloïdezouten sterker water aantrekken uit hunne omgeving, dan de organische zuren. Dit moge eene aanwijzing zijn, doch, zooals de schrijver zelf zegt, zijn de omstandigheden bij den kunstmatigen dialysator eenigszins anders dan bij de levende cel, en kunnen de resultaten hier misschien verschillen van die, welke met de door schrijver gebruikte toestellen werden verkregen.

Bovendien zoude in alle sterk turgesceerende cellen en weefsels van de onderzochte planten, dus

op plaatsen, waar de groei krachtig is, altijd alkaloïde moeten gevonden worden. Dit blijkt echter bij kiemplanten niet altijd het geval te zijn, terwijl men toch moet aannemen, dat hier de groei krachtig is in alle weefsels en cellen.

Bij het nagaan van de bestaande opvattingen over de beteekenis der alkaloïden, blijkt dus dat er niet eene gevonden wordt, die strookt met de resultaten, tot nu toe op het gebied van alkaloïdelocalisatie verkregen.

De aanwezigheid van alkaloïde wordt slechts schijnbaar door de „*beschermingstheorie*" verklaard, want het argument van de vergiftige werking op dieren is niet overtuigend. Ook de theorie als zoude alkaloïden als reserve-voedsel dienen, is niet geheel juist, in zooverre de alkaloïden slechts indirect een voedsel kunnen uitmaken. Beschouwen wij ze echter als tusschenprodukten, dus ook als opgeloste stikstofdragers, dan worden daardoor de veranderlijke localisatie, het verbruik tijdens de kieming en de nieuwe vorming, op welken leeftijd ook, gemakkelijk verklaard.

In het kort mijne resultaten samenvattend, kom ik tot de volgende conclusies:

I. Vele rijpe zaden van alkaloïde-houdende

planten houden alkaloïde gelocaliseerd in het endosperm of in de zaadlobben, die het endosperm vervangen.

II. Er wordt tijdens kieming van zulke zaden alkaloïde ontleed.

III. Er kan voor iedere kiemplant, die later alkaloïde gaat bevatten, een tijdperk voorkomen, waarin dán eens wèl dán geen alkaloïde aanwezig is.

IV. Het alkaloïde in eenig weefsel voorhanden, behoeft niet altijd in dat weefsel te blijven. De localisatie in één en dezelfde plant is veranderlijk.

V. De alkaloïden zijn stikstofhoudende tusschenprodukten, die in de stofwisseling wederom kunnen worden opgenomen.

AANHANGSEL.

Zooals ik reeds in mijne inleiding mededeelde, behoudt het door mij ingestelde onderzoek naar de localisatie van alkaloïden in *Cinchona Ledgeriana*, toevalligerwijze slechts waarde als contrôle op de resultaten, door LOTSY [1]) omtrent dit onderwerp gelijktijdig verkregen. Toch deel ik mijne resultaten mede naast die van LOTSY, omdat 1°. de resultaten van beiden, de voorstelling, die ik mij tijdens het voorgaande onderzoek over de beteekenis der alkaloïden gevormd heb, rechtvaardigen, en 2°. het verschil, dat er tusschen beider resul-

1) LOTSY. De localisatie van het alkaloïde in *Cinchona Calisaya Ledgeriana* en in *Cinchona succirubra*. Mededeelingen van de Laboratoria der Gouvernements Kina-onderneming n°. I. Batavia 1898.

In dit voortreffelijk werk vindt men naast historische gegevens en het eigenlijke localisatie-onderzoek, eene inleiding bevattende morphologische en physiologische wetenswaardigheden. Het bevat bovendien een schat van figuren en platen.

taten bestaat, juist door mijne opvatting kan worden verklaard.

In zeer beknopten vorm zijn deze resultaten de volgende:

Mijn onderzoek.	**Onderzoek van Lotsy.** [1] (Voor zoover dit van het mijne verschilt).
Blad.	
In 't jongste stadium bevat het geen alkaloïde.	
Jong stadium. **'t Meeste alkaloïde in de hypodermale parenchijmlaag en in 't sponsparenchijm, doch verder ook in het palissaden-parenchijm. Niets in epidermis.**	
In den bladnerf vindt men het in alle de vaatbundels omringende parenchijmcellen.	
In het phloeem-gedeelte daarvan werden langgerekte cellen, die later in zeefvaten of begeleidende cellen zullen overgaan, aangetroffen, die alkaloïde bevatten.	**Overgangs-cellen, zeefvaten en begeleidende cellen bevatten geen alkaloïde.**
In dunnere nerven was de laag chlorophylhoudend parenchijm, die het vaatbun-	**Mesophylcellen, vooral alkaloïdehoudend, in de nabijheid van de vaatbundels.**

1) Waar onze resultaten overeenstemmen, worden die aan de linkerzijde van de bladzijde niet medegedeeld.

deltje omgeeft (mesophylscheede) drager van alkaloïde.

De bladsteel-epidermis en de daarop voorkomende haren bevatten nooit alkaloïde, doch onmiddellijk daaronder: het collenchijm, altijd. Ook de primaire schors (schorsparenchijm) en het parenchijm in en om het phloeem zijn er van voorzien; de zetmeelscheede daarentegen niet.

Het cambium houdt gewoonlijk ook alkaloïde, evenals jonge phloeem-elementen.

Oxaalzuurhoudende cellen zijn er altijd vrij van.

Volwassen blad. In den bladschijf bevindt zich weinig alkaloïde, vergeleken bij een jonger stadium. Dit bevindt zich in het mesophyl en het hypoderma.

De bladnerven hebben het gelocaliseerd in het parenchijm om en in den vaatbundel; in zeefvaten of begeleidende cellen is het niet meer aanwezig. In den bladsteel is de localisatie dezelfde als die in het jonge

In alle tusschen houtdeel- en zetmeelscheede gelegen parenchijmcellen kan men alkaloïde aantreffen.

Het cambium bevat het in den regel niet, en zeefvaten en begeleidende cellen nooit.

stadium. Bovendien vindt men nu ook in de houtmergstralen dikwijls alkaloïde.

De gomharsgangen bevatten het nooit.

Knopschubben. In alle cellen is hierin alkaloïde aan te toonen, behalve in de epidermis (ook van de harsklieren), haren en vaatbundeltje.

In afgevallen knopschubben nam ik dikwijls geen alkaloïde meer waar; gewoonlijk slechts sporen.

In afgevallen knopschubben worden nog belangrijke hoeveelheden alkaloïde aangetroffen.

Stam.

Dáár, waar onder het groeipunt de vaatbundels zich gaan differentieeren, bevatten eenige rijen cellen aan den buitenkant van den vaatbundel gelegen, dus primaire bastcellen, het eerst alkaloïde. Iets verder bezitten het alle cellen behalve de epidermis en de jongste vaatbundelementen.

Op ouderen leeftijd bevat de epidermis ook nooit alkaloïde. Alle cellen der pri-

Zoodra de vaatbundel-initialen zich beginnen te differentieeren, bevatten alle cellen alkaloïde, behalve de epidermis en de zich differentieerende vaatbundelinitialen.

maire schors bevatten het echter behalve oxaalzuurcellen en gomharsgangen.

Van buiten af naar binnen vervolgende, grenst aan de primaire schors de zetmeelscheede, die geen alkaloïde bevat. Onmiddellijk volgen nu de lagen parenchijm tusschen de zetmeelscheede en den primairen bast, die men pericycle noemt. Deze zijn rijk aan alkaloïde. Ook de primaire mergstralen bevatten het gewoonlijk, en de cambiumcellen somtijds.

In het parenchijm van xyleem en phloeem wordt het eveneens aangetroffen.

Cambiumcellen bevatten geen akaloïde, zoolang geen secundaire diktegroel is ingetreden.

Wanneer secundaire diktegroei is ingetreden, bevatten doode evenmin als nog jonge kurkcellen alkaloïde. In het stadium daartusschen bevatten de kurkcellen het echter wel. De phellodermcellen houden ook alkaloïde.

Soms bevatten èn jong phelloderm, èn cambium èn jonge kurkcel akaloïde.

De secundaire bastcellen bevatten het meeste alkaloïde, als zij volwassen zijn; zij vormen dan tangentiale rijen, terwijl in de nabijheid van

het cambium het alkaloïde meer in radiale rijen wordt aangetroffen: mergstralen.

In volwassen zeefvaten en begeleidende cellen komt geen alkaloïde voor; wel in jeugdigen toestand, wanneer zij nog geen eiwit vervoeren.

Bastvezels zijn altijd vrij van alkaloïde.

Cambiumcellen in den regel vrij van alkaloïde.

Jonge xyleem-elementen bevatten het altijd, volwassen houtvaten en vezels nooit.

In het jongste houtgedeelte zijn ook de mergstralen en houtparenchijm dragers van alkaloïde.

De cellen, die door de werkzaamheid van het cambium zich tot zeefvaten, begeleidende cellen en bastvezels differentieeren, verliezen al hun alkaloïde zeer spoedig.

In houtvezels uiterst zelden alkaloïde.

Wortel.

Het groeipunt is evenals het wortelmutsje, dat het bedekt, vrij van alkaloïde en vindt men het ook nooit in de epidermis en wortelharen.

In een jong worteltje kan men het echter in eenige lagen van de primaire schors, onmiddellijk aan de epidermis grenzende, aantreffen.

De subepidermale laag (exodermis) bevat alkaloïde. Verder de endodermis en de direct buiten deze gelegen laag der primaire schors.

Wanneer de kurkvorming aanvangt, bevatten jonge (niet de jongste) kurkcellen alkaloïde.

Jonge vaatbundel-elementen bevatten dikwijls alkaloïde, evenals het cambium.

In secundaire schorscellen is het, evenals in die van den stam, aanwezig. In het hout treft men het alleen in mergstraal-cellen bij de cambiumlaag aan. Ook de mergstraalcellen in de secundaire schors bevatten het somtijds.

De voortplantings-organen kon ik tot mijn spijt niet onderzoeken, daar mijne planten niet bloeiden.

Wanneer men de resultaten nagaat, verkregen eenerzijds van planten op Java onderzocht, anderzijds van naar Holland geïmporteerde exemplaren, dan ziet men dat geen principieele verschillen zich voordoen. Schijnbaar principieel verschillend van LOTSY's bevindingen is wel het feit, dat ik in zeefvaten alkaloïde aantrof, doch in werkelijkheid bedoel ik met deze vondst, alleen in jonge, dus nog niet als eiwitvervoerders functionneerende bastelementen, die later zeefvaten worden, alkaloïde te hebben aangetoond. In een praeparaat van een

bladsteel zag ik, dat de jonge zeefvaten, die in groepjes van 2—3 naast elkaar voorkwamen, ongeveer 32 microns lang en 4,8 microns breed waren. De wanden, die later zeefvormig doorboord worden, lagen op eene lijn. De alkaloïde-houdende, jeugdige begeleidende cellen waren de helft smaller.

Verder trof ik blijkbaar in cambiumcellen en in jeugdige bast- en hout-elementen veelvuldiger alkaloïde aan, terwijl in het groeipunt, waar de vaatbundels zich beginnen te differentieeren, LOTSY in alle cellen alkaloïde aantrof, waar ik voornamelijk de primaire schorscellen als dragers aantoonde. Al deze verschillen worden, mijns inziens, voldoende verklaard door aan te nemen, dat mijne planten niet zoo sterk groeiden als die, welke op Java werden onderzocht.

Het alkaloïde, dat gevormd wordt, werd hier niet zoo spoedig ontleed om wederom in de stofwisseling te worden opgenomen, en is het dan eenmaal daarin overgegaan, dan is de nieuwvorming te traag om steeds in de behoefte aan alkaloïde te voorzien.

Dit zien wij b.v. duidelijk in de nabijheid van het phellogeen. Hierin kon ik geen alkaloïde aantoonen (LOTSY wel), evenmin in de allerjongste kurkcellen; wel echter in nog jonge kurkcellen,

die een tijdperk van betrekkelijke rust zijn ingegaan, en waar het nieuwgevormde alkaloïde niet onmiddellijk weer wordt omgezet, om in de stofwisseling dienst te doen.

LOTSY helt ook naar deze zienswijze over, waar hij zegt [1]) „het cambium bevat in den regel geen alkaloïde; echter treft men het er van tijd tot tijd in aan. Het schijnt mij toe, dat men het aantreft, als het cambium in rust, niet actief is. Zoodra," vervolgt hij, „de cambiumcellen echter het tijdperk van betrekkelijke rust zijn ingegaan, zich als het ware prepareerende voor de komende veranderingen in hun functie, bevatten zij alkaloïde, hetzij, dat zij zich tot vaten, houtvezels of wat dan ook zullen differentieeren."

Uit het jongste physiologische onderzoek van LOTSY [2]) volgt verder, dat het alkaloïde in hoofdzaak in het blad wordt opgebouwd, in het celvocht opgelost naar den bast vervoerd wordt, en ook in de wortels komt. Hieruit volgt, dat de kinaalkaloïden niet vergiftig zijn voor de plant zelve. Ook voor vreemde organismen schijnen deze niet zeer schadelijk te zijn, zooals ik reeds vroeger mededeelde.

1) LOTSY, loc. cit. pag. 90.

2) Mededeeling uit 's Lands Plantentuin XXXVIII 1e stuk, Batavia 1899.

Ten slotte haal ik hier nog aan, hetgeen LOTSY bij zijn localisatie-onderzoek in den wortel mededeelt: „Voor ik de primaire schors verlaat, wil ik nog even vermelden, dat hierin de door Dr. JANSE voor andere planten beschreven schimmel voorkomt. In den regel bevatten de cellen, waarin deze schimmel zich bevindt, geen alkaloïde, echter heb ik in subepidermale cellen soms schimmel en alkaloïde in dezelfde cel aangetroffen."

Hetgeen tot nu toe van de kina-alkaloïden bekend is, schijnt dus niet de meening te steunen, als zouden zij uitsluitend ter bescherming der plant dienstig zijn en zal het waarschijnlijk uit verdere physiologische proeven blijken, dat ook hier de alkaloïden eene meer actieve rol spelen.

EINDE.

STELLINGEN.

I.

De alkaloïden zijn stikstofhoudende tusschenprodukten, die wederom in de stofwisseling kunnen worden opgenomen.

II.

De alkaloïdezouten kunnen in de planten diffundeeren.

III.

Het zonlicht oefent niet direct invloed uit op de eiwitsynthese in de plant.

IV.

Meeldraden en stampers zijn in de bloem ongeslachtelijke organen.

V.

Er behoort een scherpe grens getrokken te worden tusschen fermentwerking en gisting.

—

VI.

De Myxomyceten behooren tot het dierenrijk.

VII.

De anhydriden van barnsteenzuur en phtaalzuur zijn gemakkelijk oplosbaar in water.

VIII.

De groep $\begin{array}{c} \diagdown\ \diagup \\ N \\ | \\ CH_3 \end{array}$ kan als alkaloïde-phore groep worden beschouwd.

IX.

Vergiftige werking in organische vergiften hangt samen met phenylgroepen en groepen met dubbelbinding.

X.

De door Pictet voorgestelde verdeeling der alkaloïden in vegetabilische basen en eigenlijke alkaloïden is onpraktisch.

XI.

Jeder Versuch, vor Schüler ausgeführt, muss gelingen.

LIEBIG. Chemische Briefe.

—

XII.

De N H_3-bepaling in zwavelzure ammoniak, voorgeschreven voor de Rijks-landbouwproefstations, geeft foutieve resultaten.

XIII.

De boorzuurbepaling van GOOCH is onbetrouwbaar. (Zeitschr. Fresenius 1887, 26).

XIV.

De Hübl'sche Ioodgetallen leveren geen betrouwbare gegevens bij vervalsching van lijnolie met minderwaardige produkten.